Lane Medical Library

ONDERZOEKINGEN AANGAANDE DEN B. C. G.

DOOR

W. A. G. VAN EVERDINGEN

P. H. VERMEULEN
DE ACADEMISCHE BOEKWINKEL
AMSTERDAM
1928

ONDERZOEKINGEN AANGAANDE DEN B. C. G.

PROEFSCHRIFT TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN DOCTOR IN DE GENEESKUNDE AAN DE RIJKS-UNIVERSITEIT TE UTRECHT, OP GEZAG VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS Dr. H. TH. OBBINK, HOOGLEERAAR IN DE FACULTEIT DER GODGELEERDHEID, VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT, TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER GENEESKUNDE, TE VERDEDIGEN OP DINSDAG 18 DECEMBER 1928, 'S NAMIDDAGS TE 4 UUR

DOOR

WILLEM ANDREAS GIJSBERTUS VAN EVERDINGEN

ARTS

GEBOREN TE UTRECHT

DE ACADEMISCHE BOEKWINKEL P. H. VERMEULEN, GRIMBURGWAL 13. AMSTERDAM

Aan de nagedachtenis mijner moeder.
Aan mijn vader.
Aan mijne vrouw.

Bij de voleindiging van dit proefschrift is het mij een voorrecht U, Hoogleeraren der Geneeskundige Faculteit en die der Wis- en Natuurkunde aan de Universiteit te Amsterdam, een woord van dank te brengen voor het genoten onderwijs.

In het bijzonder dank ik U, Hooggeleerde ALDERSHOFF, voor de welwillendheid waarmede gij U bereid hebt verklaard als mijn promotor op te willen treden, ofschoon dit proefschrift slechts ten deele onder uwe leiding is bewerkt.

Hooggeleerde VAN LOGHEM, U dank ik voor de gelegenheid, die U mij geboden hebt in Uw laboratorium mijn onderzoekingen aan te vangen.

Hooggeleerde EIJKMAN, bijzonderen dank ben ik U verschuldigd voor de groote welwillendheid, die U mij steeds betoond hebt bij het voortzetten mijner proeven.

Tenslotte een woord van dank aan allen, die mij in eenigerlei opzicht bij mijn onderzoek van dienst zijn geweest.

VOORBERICHT

Wij hebben ons in deze verhandeling ten doel gesteld een nader onderzoek in te stellen naar de virulentie van den bacil van CALMETTE-GUERIN (B.C.G.) teneinde na te gaan of, zooals vooral van fransche zijde wordt betoogd, de B.C.G. inderdaad een avirulente tuberkelbacil is en of deze avirulentie een erfelijke eigenschap is geworden in dien zin, dat men hier met een mutant te maken zou hebben. Tevens hebben wij getracht een nader inzicht te verkrijgen in de werking van den bacil op een door eenigerlei oorzaak verzwakt organisme, daar wij meenen dat dit vraagstuk, hoewel hierover in de litteratuur slechts weinig vermeld wordt, van belang is voor de toepassing van dit middel bij den mensch.

Waar de bestrijding der tuberculose, misschien een krachtig wapen gevonden heeft in den B.C.G., meenen wij dat niets onbeproefd gelaten mag worden om een beter inzicht te verkrijgen in de waarde van dit strijdmiddel. Wij hopen, dat onze proeven hiertoe iets mogen hebben bijgedragen.

Utrecht, December 1928.

INLEIDING

Het begrip virulentie heeft bij de bestudeering der voorbehoedende onvatbaarmaking tegen tuberculose door het middel van CALMETTE en GUERIN een zeer bijzondere beteekenis.

Wat toch verstaan wij onder virulente tuberkelbacillen?

Dit zijn bacillen die, gebracht in een organisme dat gevoelig is voor tuberculose, in dit organisme een klinisch waarneembare tuberculose veroorzaken. Met andere woorden, de tuberkelbacil is virulent wanneer ze ziektemakende, nosogene eigenschappen bezit.

De vraag is nu of wij een tuberkelbacil, die geen nosogene eigenschappen bezit avirulent zullen noemen. Is in dit geval anosogeen gelijk aan avirulent?

Deze vraag ontmoeten wij bij de bestudeering der verschijnselen veroorzaakt door den bacil van CALMETTE en GUERIN, een zeer verzwakte bovine tuberkelbacillenstam.

Is deze bacil avirulent?

In den zin van anosogeen, in klinischen zin dus, moet deze vraag meenen wij, na de tallooze onderzoekingen, die op dit gebied nu reeds gedurende vele jaren gedaan zijn, bevestigend beantwoord worden.

Er zijn geen gevallen bekend waarbij de B.C.G. een klinisch waarneembare tuberculose veroorzaakt heeft. Evenmin is dit met zekerheid geconstateerd bij de toepassing van het middel op den mensch. Ook van een generalisatie is nooit iets gevonden. Dat wil zeggen van een verspreiding van den bacil door het geheele organisme is niets waargenomen in dien zin, dat nooit klinische verschijnselen geconstateerd zijn, die wezen op een gegeneraliseerde tuberculose.

Toch is over de virulentie van den B.C.G. veel gestreden. Ons inziens ten onrechte. Het gaat bij den B.C.G. om tweeërlei virulentie die men scherp gescheiden moet houden: een virulentie in klinischen zin, en een virulentie in pathologisch-anatomischen zin. Wat toch is het geval?

Bij den B.C.G. is het meest typische verschijnsel dat men waar-

neemt de groote tegenstelling tusschen de pathologisch-anatomische afwijkingen, en de klinisch waarneembare symptomen.

Hoewel practisch alle proefdieren volmaakt gezond blijven zonder eenigerlei typische klinische afwijking te vertoonen, blijken toch telkens weer zeer groote pathologisch-anatomische veranderingen in het organisme aanwezig te zijn, veroorzaakt door de inspuiting met B.C.G. Deze afwijkingen kunnen soms gering, soms daarentegen aanmerkelijk zijn, en maanden blijven bestaan. Indien wij in zulk een geval te doen hadden met een virulente nosogene tuberkelbacil, zou het proefdier òf reeds lang de symptomen vertoond hebben van een ernstige tuberculose, òf reeds lang aan deze aandoening gestorven zijn.

Juist deze typische tegenstelling tusschen kliniek en pathologische anatomie is steeds weer aanleiding geweest tot veel pennestrijd. Ons inziens pleit deze tegenstelling sterk voor de onschadelijkheid van den B.C.G., voor het anosogene karakter van den bacil.

Typisch is ook voor de pathologisch-anatomische afwijkingen, dat men nooit een generalisatie der afwijkingen heeft waargenomen. De afwijkingen blijven, hoewel ze b.v. bij intraperitoneale inenting door de geheele buikholte verspreid kunnen zijn, toch steeds tot de buikholte of tot de regionaire lymphklieren beperkt. Ook dit verschijnsel pleit sterk voor de klinische avirulentie der bacillen, welke meening, zooals wij te zijner tijd zullen zien, ook nog bevestigd wordt door het microscopisch beeld der afwijkingen.

Belangrijk is ook het feit dat de pathologisch-anatomische verschijnselen in tegenstelling met de afwijkingen door den virulenten tuberkelbacil veroorzaakt, na verloop van tijd geheel terug gaan.

Hoewel CALMETTE in de eerste publicaties van meening was, dat de B.C.G. geen pathologisch-anatomische verschijnselen gaf, heeft hij later toegegeven, dat de B.C.G. wel specifieke afwijkingen vertoont, wel tuberculigeen is. Zooals reeds gezegd, gaan deze afwijkingen steeds weer geheel terug.

Bij de bestudeering van den B.C.G. moet men dus scherp onderscheiden tusschen de klinische virulentie en de pathologisch-anatomische virulentie.

De B.C.G. is in klinischen zin te beschouwen als anosogeen. In pathologisch-anatomisch opzicht zijn evenmin verschijnselen waargenomen die wijzen op een nosogeen karakter van den bacil. Zelfs

vraagt men zich af of niet de avirulentie van den B.C.G. zoover is voortgeschreden, dat zij geen beteekenis meer heeft voor de voorbehoedende onvatbaarmaking. Niet òns alleen is het opgevallen dat de pathologisch-anatomische afwijkingen veroorzaakt door den steeds op aardappelgal gekweekten B.C.G. bij de jongere generaties van dezen bacil van geringer omvang zijn dan eenige jaren geleden. Een nader onderzoek naar dit laatste verschijnsel is voor de practische toepassing van het middel van groot belang.

HOOFDSTUK I.

Wanneer men de ontwikkelingsgeschiedenis van den B.C.G. op den voet volgt, dan bespeurt men weldra, dat vanaf het oogenblik dat de proefdieren niet meer sterven tengevolge van het inbrengen van een dosis B.C.G., de moeilijkheden aangaande de vraag der virulentie-bepaling zich gaan voordoen.

De eerste mededeelingen omtrent een op glycerine-gal gekweekte tuberkelbacil treft men aan in een artikel in de Comptes rendus de l'Academie des Sciences van 28 Dec. 1908. Eén mgr. van deze cultuur intraperitoneaal bij een cavia ingebracht, doodt het proefdier in hoogstens 18 dagen, terwijl caviae die ingespoten werden met dezelfde dosis van een aardappel-galcultuur, 20 tot 25 dagen bleven leven. Bij de sectie bleek een exsudatieve peritonitis zich ontwikkeld te hebben. Uit de sectieverslagen ontleenen wij verder nog het volgende:

„très souvent l'épiploon forme une masse dure, volumineuse, d'aspect fibreux avec de place en place de petites massives purulentes contenant un nombre enorme de leucocytes polynucléaires bourrés de bacilles: ceux-ci prennent l'aspect de pelotes compactes refoulant le noyau leucocytaire à la peripherie .... aucune formation de cellules géantes."

Meestal treft men een dubbelzijdige pleuritis aan met vrij veel vocht; in de longen hepatisatie zonder tuberkels. Ook bij de subcutane enting met ½ mgr. bacillen traden verschijnselen op van een krachtige virulentie: „La généralisation de l'infection aboutit ensuite à des lésions d'infiltration: rate volumineux, pleurésie, hépatisation pulmonaire, le plus souvent sans tubercules, comme à la suite d'inoculation intraperitoneale."

Intraveneuse inspuiting van 5 mgr. bacillen van de 2de overenting op glycerine-gal verwekte een algemeene infectie: „d'allure typhique sans lésions folliculaires et non mortelle".

Bij de 10de overenting was een hoeveelheid van 50 mgr. noodig om dezelfde verschijnselen te verwekken. Bij de 15de overenting

echter was een dosis van 100 mgr. nog niet in staat om steeds een doodelijke infectie te veroorzaken.

Een intraperitoneale inspuiting van 1 mgr. verwekte volgens CALMETTE: „une tuberculose viscérale compatible pendant plus de 5 mois avec les apparences d'une bonne santé sans amaigrissement . . . . l'affection n'a aucune tendence à la généralisation." Een subcutane inspuiting onder de dijhuid verwekte wel een zwelling van de regionaire klieren, maar overigens bleven de proefdieren gezond. Voor het paard echter bleek dat deze 15e overenting nog zeer virulent was. De dieren stierven in een tijdsverloop van 46 tot 63 dagen, terwijl bij de sectie enorme afwijkingen in de longen werden gevonden. Deze zelfde verschijnselen bleken zich ook nog te ontwikkelen bij de 42ste passage. Een subcutane inspuiting van 1 mgr. onder de dijhuid van een cavia gaf klierzwelling, maar er was nooit sprake van generalisatie. Voor het paard bleek echter dat deze 42ste passage nog uiterst virulent was. Bovendien bleek door rëinfectie met mesenteriaal- en mediastinaalklieren, dat deze klieren bacillen bevatten, „dont la virulence pour les cobayes était plus grande que celle des bacilles provenant des cultures qui avaient servi aux inoculations", zoo zegt CALMETTE „car ces cobayes tous porteurs de l'adénite spécifique présentaient à l'autopsie faite après 75 jours des ganglions sous-lombaires caséeux et pour quelques uns, des lésions discrètes du foie, de la rate et des poumons." Wij kunnen dus bij de beschouwing der resultaten van inspuitingen met de 42ste passage geenszins aannemen, dat toen reeds een avirulente en in zijn eigenschappen constante bacil aanwezig was. Hoewel de afwijkingen bij caviae gering waren, en zelfs hoeveelheden van 100 mgr. den dood niet konden veroorzaken, bleek toch dat bij overenting de bacil zijn virulentie terug kon krijgen. Er was dus nog geen sprake van avirulentie bij de 42ste passage.

Bij de bespreking der resultaten met de 70ste passage vinden we voor het eerst een mededeeling waarin gesproken wordt van: „bacilles non tuberculigènes, parfaitement tolérés par l'organisme des bovidés et par celui d'autres animaux sensibles au virus tuberculeux . . . . Cette race avirulente se comporte comme un véritable vaccin".

Bij de 213de passage bleek dat 10 mgr. bacillen intraveneus ingespoten, 2 dagen na de injectie, een lichte voorbijgaande koorts

verwekte, welke 10 dagen duurde .... „puis tout rentre dans l'ordre". Een paard dat intraveneus ingespoten werd met 100 mgr. B.C.G. kreeg vanaf den vierden dag temperatuursverhooging, welke verhooging langzaam afnemende, tot den 30sten dag duurde. Er traden vluchtige oedemen op aan de ledematen, en bij auscultatie vond men van den zevenden tot den vijftienden dag teekenen van „congestion pulmonaire."

Zes weken na de injectie was het dier geheel hersteld. Een tweede inspuiting 5 maanden later werd goed verdragen.

Twee weken nadien werd het dier gedood, zonder dat men tuberculeuze laesies vond. „L'infection massive intraveineuse détermine chez lui une maladie fébrile d'allure typhique assez bénigne et qui ne s'accompagne d'aucune formation nodulaire." Ook bacillen van de 210de tot 235ste passage waren volgens CALMETTE niet in staat tuberkels te produceeren. In een zijner artikelen waarin hij de vaccinatie van runderen bespreekt komt hij tot de volgende conclusie: „le bacil B.C.G. est complètement privé de virulence. Il a perdu tout aptitude à provoquer la formation de tubercule. Après 13 ans de cultures successives sur pommes de terre biliées (5 Janv. 1921—230ste passage) il était complètement privé de virulence même à fortes doses pour toutes les espèces animales. Nous n'avons jamais réussi par de réinoculations successives de restituer à notre bacille des propriétés tuberculigènes ....

Il est complètement inoffensif pour toutes les espèces animales y compris le chimpanzé et aussi pour l'homme." [1])

Proeven genomen op allerlei dieren hebben volgens CALMETTE, niet alleen de onschadelijkheid der behandeling met B.C.G. bewezen, maar ook een duidelijk beschuttende werking ten opzichte van infecties met virulente tuberkelbacillen aan het licht gebracht. Men is er toen toe overgegaan een groot aantal zuigelingen per os met het vaccin te behandelen.

Reeds onze landgenoot SCHUURMANS STEKHOVEN heeft in zijn proefschrift aangetoond, dat men met de statistieken waarmede CALMETTE en zijn medewerkers de bruikbaarheid van het middel meenen te kunnen aantoonen, uiterst voorzichtig moet zijn, en dat het, afgezien van de betrekkelijke waarde der statistiek in dezen,

---

[1]) Ann. de l'inst. Past. T. 38. 1924. No. 5, p. 371—398.

eerst na een reeks van jaren mogelijk zal zijn de resultaten der behandeling met eenige mate van zekerheid te beoordeelen.

Wanneer wij deze statistiek eens van een geheel anderen kant bezien, n.l. van het vraagstuk der schadelijkheid, dan zal het blijken dat de onschadelijkheid van het middel, uit de statistiek niet voldoende is komen vast te staan.

In een zijner laatste publicaties wijst SCHUURMANS STEKHOVEN hier ook op en zooals reeds gezegd, bepleit hij de noodzakelijkheid van uitgebreide dierproeven in dit opzicht.

Nemen wij een oogenblik aan dat de afwijkingen die men constateert na het behandelen van een proefdier of een zuigeling met B.C.G. van onschuldigen aard zijn, dan dringt zich toch onwillekeurig de vraag aan ons op: „is deze behandeling ook onschadelijk wanneer men haar toepast op verzwakte individuen, en heeft ze geen invloed op kort na de inspuiting optredende of reeds aanwezige ziekelijke afwijkingen van willekeurigen anderen aard? Dit vraagstuk is slechts op te lossen door het dierexperiment. Echter kunnen de statistieken in de litteratuur vermeld, ons in dit vraagstuk reeds eenig licht brengen. Beschouwen wij eens de documenten van de Ukrainische Commissie betreffende de premunitie van pasgeborenen met B.C.G. [1]).

404 kinderen werden behandeld. De mortaliteit bedroeg 26. Hiervan stierven er:

Op	een	leeftijd	van	3	maanden	4.
„	„	„	„	3—6	„	6.
„	„	„	„	6—12	„	12.
„	„	„	„	12—18	„	4.

In hare conclusie zegt de commissie: „. . . . . nous n'avons pu relever aucun effet nuisible de la prémunition sur le développement des enfants, non plus que sur leur résistance aux autres infections . . . .

Si nous ajoutons que la plupart de ces enfants ont eu à subir des atteintes de la grippe et de la pneumonie et que plusieurs d'entre eux ont souffert de la rougeole, de la coqueluche et de la scarlatine, la conclusion qui se dégage d'elle même est que la prémunition n'a exercé aucune influence nuisible sur la résistance générale des sujets."

Is deze conclusie door de feiten gerechtvaardigd?

---

[1]) Ann. de l'inst. Past. T. XLI. No. 12, p. 1045—1062.

Beschouwen wij de 26 sterfgevallen eens nader.

Teneinde een goed overzicht te krijgen zullen we hieronder de tabel geven die de commissie zelve over deze gevallen heeft samengesteld.

Causes des décès des enfants prémunis:

(De tabel betreft de totale sterfte onder 404 behandelde zuigelingen na 19 maanden.)

		Tuberculeux suspects	formes ouvertes. de t.b.c.
pneumonie grippale	6	1	
troubles aigus intestinaux	5	5	
infection septique	2		
Scarlatine	2		
rougeole	1		
coqueluche	1		
méningite cerebrospinale.	1		
Tuberculose pulmonaire			1
Cause inconnue	1		
	19.	6.	1

Secties werden niet verricht. Volgens opgave waren deze kinderen afkomstig uit families waar geen of bijna geen tuberculeus contact was.

De vaccinaties hadden plaats midden September 1925. Tot 15 April was één kind aan tuberculose gestorven. Omtrent dit eenige sterfgeval aan tuberculose deelt de commissie het volgende mede:

Er is geen sectie verricht, maar de klinische diagnose liet geen twijfel toe. Het kind stamde uit een familie waarvan de vader dubbelzijdige cavernen had. „Contact très intime, des conditions domiciliaires et matérielles très mauvaises."

Dit geval behoeft natuurlijk geenszins te pleiten tegen den B.C.G. Er is hier sprake van een voortdurende, waarschijnlijk zeer groote infectiekans, reeds direct na de enting, zoodat het niet onverklaarbaar is, dat het vaccin tegen zulk een invasie niet voldoende kan beschermen. Er is echter meer. Alle diagnoses zijn klinische diagnoses, niet bevestigd door de autopsie.

We vinden hier zes gevallen die een verdacht tuberculeus beeld vertoonden. Hiervan stierven 5 tengevolge van „troubles aigus in-

testinaux", met verdenking op tuberculose. Echter overleden nog 5 kinderen onder dezelfde diagnose „troubles aigus intestinaux", zonder dat hier blijkbaar een verdenking op tuberculose bestond. 1 Geval van pneumonie grippale was verdacht, 6 waren dit blijkbaar niet. Men houde hierbij echter in het oog, dat geen secties werden verricht. Nu is het wel zéér opvallend dat vóór dien onder de sterfgevallen steeds vele gevallen van „enterite" vermeld worden, zonder dat hieronder ooit een geval van „tuberculeux suspect" voorkwam.

Niettegenstaande de Oekraïnische Commissie herhaaldelijk blijk geeft van een veel grootere objectiviteit dan de overige medewerkers en medewerkende commissies die het vraagstuk der voorbehoedende onvatbaarmaking tegen tuberculose ter hand hebben genomen, meenen wij toch dat de meening der Commissie dat de B.C.G. geen enkelen schadelijken invloed heeft, niet geheel gerechtvaardigd is. Daar geen secties zijn verricht, en niet is opgegeven hoeveel tijd na de inenting elk kind stierf aan de vermelde ziekte, schijnt het ons toe, dat men de waarde van deze statistiek, maar een betrekkelijke kan noemen. In elk geval kan met deze statistieken de onschadelijkheid der behandeling niet voldoende bewezen worden. Een bezwaar is ook dat niet wordt medegedeeld waarom sommige gevallen wel, andere gevallen daarentegen niet verdacht waren op tuberculose. Waar sectieverslagen niet vermeld worden, ware een nadere klinische beschouwing dezer gevallen wenschelijk geweest. Juist de niet op tuberculoze verdachte gevallen boezemen ons belang in. Hier toch ontmoet men gevallen die, door secundaire oorzaken verzwakt, tot den exitus geraakten. Welke rol heeft de B.C.G. gespeeld? Heeft de behandeling het optreden der ziekte, die hier ad exitum leidde, verhaast of beïnvloed?

Een eigenaardige tegenspraak ontmoet men bovendien bij de proeven op caviae die genomen zijn, ter nader onderzoek der onschadelijkheid van den B.C.G. In de eindconclusies dezer proefreeksen leest men de volgende zinsnede: „les cobayes sains supportent bien les quantités massives de B.C.G. introduites par differentes voies à condition qu'aucune infection étrangère n'intervienne. Ceux qui ont succombé à des infections étrangères et ceux qui furent sacrifiés pour être autopsiés ne présentèrent aucune lésion tuberculeuse apparente sauf des adénites, parfois nettement visibles et des abscès loceaux sous-cutaneés ou intrapéritoneaux!"

Men vraagt zich af waarom hier zóó sterk de nadruk gelegd wordt op gezonde caviae en op een bijkomstige infectie van anderen dan tuberculeuzen aard. Of met deze „infections étrangères" alleen tuberculeuze infecties bedoeld worden, wordt niet duidelijk aangegeven. Hoewel reeds zeer veel proeven er op wezen, dat gezonde caviae groote doses B.C.G. zonder schade kunnen verdragen, heeft men toch door proeven trachten uit te maken, hoe deze dieren zich zouden gedragen wanneer men ze verzwakte door b.v. diphterietoxine of een slechte voeding. (régime hypo-avitaminée.)

Op deze proeven komen wij nader terug. Aangezien nergens melding wordt gemaakt van controledieren, hetgeen zooals later uit onze eigen proeven zal blijken van groot belang is, blijft ook van deze proeven de waarde een betrekkelijke.

CALMETTE zelf heeft de zooeven genoemde bezwaren ook gevoeld. In zijn overzichtsartikel van Maart 1927 in de Annales de l'Institut Pasteur T.XLI Mrt. 1927 No. 3. p. 201—232 zegt hij bij de bespreking der resultaten van de enting op kinderen:

„Il est arrivé ainsi que quelques enfants nés débiles prématures, hérédosyphilitiques, ictériques ou présentant quelque malformation congénitale ayant ingéré une ou plusieurs doses de B.C.G. après leur naissance, soient morts quelques jours plus tard et que les décès aient été sans la moindre raison plausible attribué à la vaccination antituberculeuse, puis qu'aussi bien que les 21.200 nouveaux-nés dont plusieurs dizaines de prématures qui avaient déjà été vaccinés à la date du premier Janvier 1927 sont là pour attester l'innocuité parfaite de la methode, et que d'autre part l'expérimentation montre que les très jeunes cobayes ou lapins à la mamelle ingèrent sans qu'il en resulte aucun trouble de leur état de santé des doses de B.C.G. dix et cent fois supérieures à celles qui sont utilisés pour la prémunition des enfants."

Afgezien van het feit dat hier twee absoluut ongelijkwaardige grootheden, zieke zuigelingen en gezonde caviae worden vergeleken, is het argument dat tientallen prematuren volmaakt gezond zijn, volkomen ontoereikend om de bewering, dat er verband zou kunnen bestaan tusschen enting en den exitus kort na dien ingreep, te ontzenuwen. Het feit dat van 10 typhuslijders er b.v. acht niet sterven, is nog geen bewijs voor de onschadelijkheid van een infectie met den typhusbacil.

WEIL, HALLE en TURPIN geven een overzicht van 469 behandelde kinderen. Van deze kinderen stierven er drie aan gastro-enteritis, één overleed na 9 dagen, twee na 10 dagen.

Deze onderzoekers hebben gedacht aan een mogelijk verband tusschen enting en doodsoorzaak. Deze mogelijkheid lijkt hen onwaarschijnlijk aangezien terzelfder tijd meerdere sterfgevallen voorkwamen in de maternité waar deze kinderen verpleegd werden; sterfgevallen, „concernant aussi bien des enfants n'ayant pas reçu de vaccin." Dit wettigt volgens hen de hypothese dat de geënte kinderen gestorven zouden zijn tengevolge van: „petites épidémies du à d'accidents toxiques ainsi que nous l'avions indiqué dans notre précédant travail." Hiermede eindigt echter de lijst der sterfgevallen niet. Er volgen nog een reeks kinderen waarbij voor elk kind apart doodsoorzaak en tijdsinterval worden opgegeven. Wij zullen alleen de sterfgevallen tot drie maanden vermelden. Secties werden niet steeds verricht, maar „l'évidence clinique, l'absence fréquente de cuti-réaction positive permettent d'éliminer le rôle de la tuberculose."

Hieronder volge de bedoelde tabel.

1 décéde à deux mois de troubles gastro-intestinaux.
1 „ „ deux mois huit jours de troubles gastro-intestinaux.
1 „ „ trois semaines de broncho-pneumonie.
1 „ „ trois mois de troubles gastro-intestinaux.
1 „ „ vingt jours dé débilité congénitale.
1 „ „ un mois vingt-deux jours de diarrhée cholerique.
1 „ „ cinq semaines de gastro entérite.

Wanneer we nu deze gevallen beschouwen, dan treft ons in de eerste plaats dat het aantal darmafwijkingen verreweg overwegend is. Op tuberculose verdachte gevallen worden in tegenstelling met het Ukraïnische rapport niet vermeld. Daar secties niet steeds verricht zijn, blijft ook hier weer ernstige twijfel bestaan.

Wij zouden uit de verschillende mededeelingen over de toepassing van den B.C.G. nog meerdere dergelijke statistieken kunnen citeeren. Wij zullen echter met de door ons vermelde volstaan, aangezien deze voor ons voldoende zijn, om de beteekenis van een zeer nauwkeurig en uitgebreid onderzoek omtrent de schadelijkheid van het vaccin in het licht te stellen.

Men meene niet dat wij een directe schadelijkheid van den B.C.G.

willen aannemen. Veel pleit ervoor dat inderdaad zulk een enting onschadelijk is; een open vraag blijft het of een reeds verzwakt organisme, dat ingespoten wordt met B.C.G. deze behandeling zonder schade verdraagt. Zal tengevolge van een enting met B.C.G. een organisme, indien het reeds verzwakt is door een andere oorzaak, niet zoodanig aangegrepen worden, dat de oorspronkelijke schadelijke prikkel voldoende is om den dood te veroorzaken?

De oplossing van deze vraag is voor de toepassing van het middel in de algemeene praktijk van groot belang.

In het derde hoofdstuk zullen wij nader terugkomen op dit vraagstuk, waarin wij door onze eigen proeven hebben getracht eenig licht te brengen.

Het niet nauwkeurig omschrijven van het virulentiebegrip in deze materie heeft aanleiding gegeven tot allerlei verwarring. Zooals wij reeds zeiden hebben CALMETTE en zijn medewerkers tenslotte moeten toegeven, dat de afwijkingen door den B.C.G. veroorzaakt wel degelijk de uiting zijn eener zwakke, zij het ook slechts „lokaal werkende" virulentie. In dit opzicht neemt de Ukraïnische Commissie alweer een bijzonder standpunt in. Zij toch zegt: [1]). „Les polemiques qui en sont résultées (n.l. over de vraag of B.C.G. al of niet virulent is) peuvent être considérées comme closes parce qu'il est maintenant évident pour tous, que lorsqu'on introduit des doses massives du B.C.G. dans l'organisme d'un animal, on peut déterminer des altérations locales d'apparence tuberculeuse, mais d'un caractère nettement bénin et incapable d'être le point de départ du développement d'un processus tuberculeux évolutif." De vraag is nu maar of er nooit sprake is van een generalisatie. SCHUURMANS STEKHOVEN beschrijft in zijn proefschrift eenige gevallen waarbij hij meent wel degelijk iets gevonden te hebben dat lijkt op een beginnende generalisatie. Absoluut zeker wil hij zich daar niet over uitspreken, maar er ontstaat hierdoor toch een ernstige twijfel aan de juistheid van de boven geciteerde passus. Aan een groot materiaal is door ALDERSHOFF dit echter niet bevestigd kunnen worden. (Voordracht tuberc. studiecommissie 20 October 1928.)

Bij onze proefreeksen hebben wij geen gevallen kunnen constateeren waarbij we generalisatie konden aannemen. Onze overentingen,

---

[1]) Ann. de l'inst. Past. T. XLI. 1927. No. 10, p. 1045—1062.

ook die van ernstige gevallen bleven negatief, hetgeen geheel in overeenstemming is met de resultaten der latere onderzoekers.

Bij het ter sprake brengen van de virulentie komt van zelve ook naar voren het vraagstuk van den virulentie-terugkeer. CALMETTE neemt ten opzichte hiervan een vrij beslist standpunt in. In een overzicht der resultaten der preventieve vaccinatie sinds 1 Juli 1924 (Ann. de l'Inst. Past. T.XLI No. 3) zegt hij o.a.: „nous avons donc cherché à créer artificiellement une race de bacilles tuberculeux qui fut réellement privée de virulence pour toutes les espèces animales et qui pût servir de vaccin au même titre que les vaccins de Pasteur, c'est à dire dont les caractères fussent héréditairement fixés".

Dat hij meent hierin geslaagd te zijn moge blijken uit eenige citaten ontleent aan ditzelfde verslag: „En poursuivant avec persévérance nos cultures successives, nous avons pu nous convaincre . . . que notre bacille . . . est parfaitement inoffensif et qu'il ne produit plus de tubercules" en iets verder: „expérimentations sur de jeunes bovins d'abord, puis sur des singes de diverses espèces y compris les anthropoïdes montra bientot que les bacilles dits B.C.G. privé de virulence absorbés par les voies digestives . . . . confèrent aux animaux et sans qu 'il puisse en résulter pour eux le moindre danger le même état de résistance vis-à-vis des infections que réalise dangereusement une très légère infection virulente."

Wanneer hij zich nu verdedigt tegen de verschillende bezwaren die men geopperd heeft ten aanzien van het vaccin, raakt hij tevens het vraagstuk van den virulentie-terugkeer aan: [1]) „Il est assurément impossible d'affirmer qu'aucun artifice de laboratoire ne réussira à rendre au B.C.G. tout ou partie de la virulence qu'il a lentement perdue . . . . Mais on peut croire qu'il serait fort difficile et long d'obtenir un tel résultat, si l'on veut bien réfléchir au nombre d'années qu'il a fallu pour créer une race avirulente dont les caractères soient héréditairement fixés."

En werkelijk is dit geen der onderzoekers tot nog toe gelukt. Ook de Ukraïnische Commissie die, het groote belang van dit vraagstuk inziende, proeven hieromtrent genomen heeft vermeldt negatieve resultaten.

Omtrent door ons in dit verband genomen proeven verwijzen wij naar het volgende hoofdstuk.

[1]) Ann. de l'inst. Past. T. XLI. 1927. No. 3, p. 225.

HOOFDSTUK II.

Wij stellen ons voor in dit hoofdstuk onze eerste reeks proeven te behandelen, betrekking hebbende op het vraagstuk der specifieke schadelijk werkende stoffen van den B.C.G. en op het vraagstuk van den virulentie-terugkeer.

Wij hebben bij onze proeven gebruik gemaakt van volwassen normale caviae, die wij zoowel subcutaan als intraperitoneaal inspoten met hoeveelheden B.C.G. wisselend van 5 tot 100 mgr.

Wij zullen achtereenvolgens onze verschillende proefdieren afzonderlijk bespreken om ten slotte de door ons verkregen resultaten te toetsen aan de litteratuur.

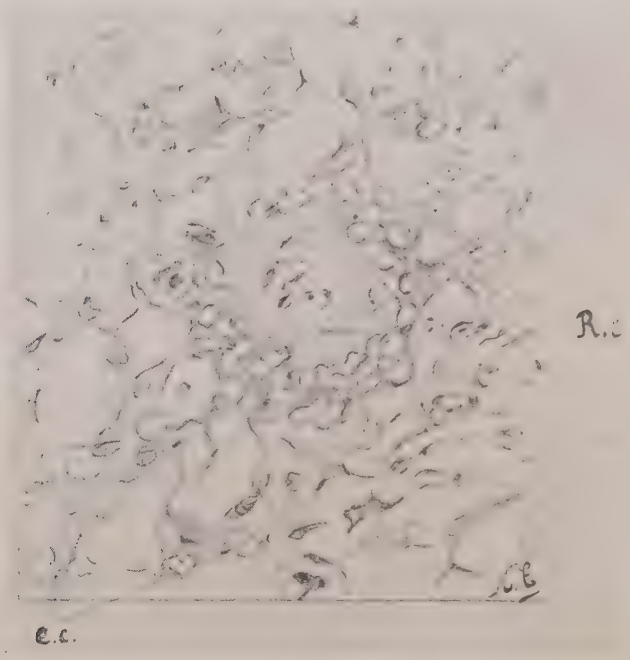
Eerste Proefreeks.

Subcutane entingen. (5—20 mgr.)

Cavia I. Subcutaan ingespoten met 5 mgr. B.C.G. Na vier dagen was een lichte zwelling voelbaar op de insteekplaats, die gedurende drie weken regelmatig in grootte toenam en ten slotte in 't centrum naar buiten toe perforeerde. Uit de perforatie-opening vloeide dikke roomgele pus, die tallooze zuurvaste staafjes bevatte. In de rechterlies was een erwtgroote liesklier te voelen die vast van consistentie was. Ongeveer drie weken nadien was de zwelling verdwenen en de perforatie-opening gecicatriceerd. Liesklieren waren niet meer te voelen. Het dier nam regelmatig toe in gewicht, bracht drie jongen ter wereld en stierf 341 dagen na de enting. Bij de sectie bleek zich in abdomine een enorme cyste in de lever ontwikkeld te hebben. (distomum hepatic.). Overigens waren alle organen, ook die in den thorax geheel normaal. Noch macroscopisch, nòch microscopisch werd eenigerlei afwijking gevonden..

Cavia II. Subcutaan ingespoten met 10 mgr. B.C.G. Na vier dagen was een lichte zwelling voelbaar op de insteekplaats. Deze zwelling nam de eerste drie weken in omvang toe. De consistentie bleef vrij vast. Perforatie trad niet op. In de rechterlies was een

Fig. II.
„Tubercule d'infection" van cavia IV, 1.



R.c. reuzencel. e.c. epithelioïde cellen.

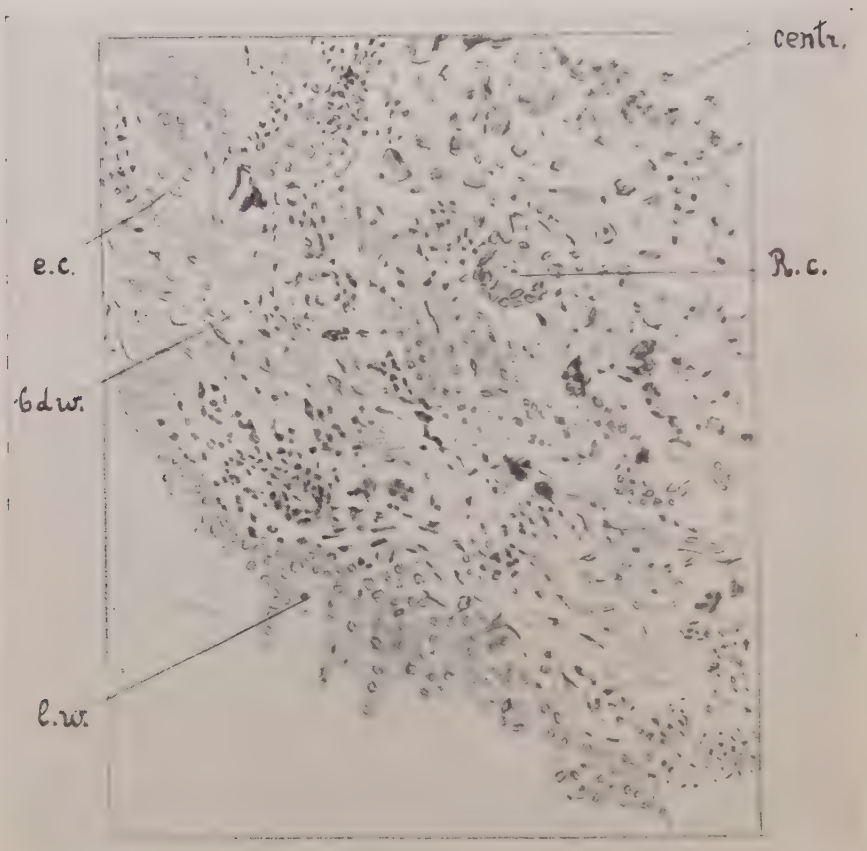
erwtgroote, vaste klier te voelen. Na de eerste drie weken nam de zwelling langzaam in grootte af, en bleek na zes weken geheel verdwenen te zijn. Het dier stierf 73 dagen na de enting. Bij de sectie werd bloed in de buikholte gevonden. Het dier had blijkbaar voor kort jongen geworpen. Er was een lichte peritonitis. De lever was anaemisch. Op het miltoppervlak bevond zich een iets verheven miliair knobbeltje, scherp omschreven, geelwit van kleur. Dit bevatte bij insnijding een weinig dik vloeibare pus, welke zuurvaste staafjes bleek te bevatten. Subcutaan werd op de insteekplaats eveneens nog een weinig pus gevonden. Deze pus bevatte zuurvaste staafjes. De pus werd bij een tweede cavia in de buikholte ingespoten. Dit proefdier stierf twee dagen later, zooals het bacteriologisch onderzoek uitmaakte, tengevolge van een paratyphus B. infectie.

Cavia III. Subcutaan ingespoten met 20 mgr. B.C.G. Wij constateerden bij dit proefdier hetzelfde verloop als bij de vorige twee caviae. Ook hier een zwelling op de insteekplaats, die na twee maanden naar buiten toe perforeerde, en ongeveer drie maanden nadien volkomen genezen was, zonder sporen achter te laten. Het proefdier, dat een geheel normalen indruk maakte werd 153 dagen na de enting gedood. Bij de sectie werden geenerlei macroscopische of microscopische afwijkingen gevonden. Lever, milt, longen en liesklieren waren geheel normaal. Er werden geen sporen van de aanwezigheid van den bacil meer gevonden.

Cavia IV. Subcutaan ingespoten met 20 mgr. B.C.G. Negen dagen na de enting stierf het proefdier tengevolge van paraty. B infectie. Op de insteekplaats bevond zich subcutaan veel dikke pus, welke intraperitoneaal ingebracht werd in een tweede cavia. (C IV, 1). Deze cavia C IV, 1 leefde gedurende negen maanden zonder eenige afwijking vertoond te hebben. Bij de sectie bleek dat het omentum zeer sterk verdikt was. Bij doorsnijding vloeide dikke pus uit het sneevlak. Deze pus bevatte tallooze zuurvaste staafjes, waarvan vele slechts weinige kleurbaar bleken volgens ZIEHL-NEELSEN.

Op het leveroppervlak bevond zich een iets promineerend, rond, vast, geelachtig gekleurd knobbeltje pl.m. één m.M. in doorsnede. Bij insnijding vloeide geen pus naar buiten. De milt en longen vertoonden geen afwijkingen. De liesklieren rechts en links waren iets

Fig. I.
„Tubercule d'infection" van cavia IV, 1.



e.c. epithelioïde cellen. b.d.w. bindweefsel van den kapsel. l.w. leverweefsel. R.c. reuzencel. centr. centrum van den tuberkel.

vergroot. Bij microscopisch onderzoek van het haardje op het leveroppervlak bleek dit een tuberkel te zijn, die centrale regressie vertoonde. In den tuberkel vonden we reuzencellen en tallooze epithelioide cellen. Tusschen deze cellen viel op een vrij sterk infiltraat van polymorfkernige leucocyten. Het microscopische onderzoek van het omentum gaf op meerdere plaatsen grootere en kleinere tuberkels, sommige met centrale verkazing, te zien. Het beeld leek zeer sterk op dat van den levertuberkel. Opvallend bij dit beeld was het polymorfkernige infiltraat, en de vrij groote neiging tot bindweefselvorming. De wand van den tuberkel bestond uit een zeer dikke bindweefselkapsel, waarvan de vezels in evenwijdige bundels om het centrum van den tuberkel heenliepen. In het centrum van den tuberkel bevond zich detritus; in de ruimte tusschen bindweefselkapsel en centrum was de neiging tot bindweefselvorming opvallend. Deze verschijnselen die blijkbaar wijzen op de geringe virulentie, zullen wij bij de andere proefdieren nog sterker op den voorgrond zien treden. Daar treedt niet alleen de bindweefselvorming sterk naar voren, maar zoowel in den kapsel als centraalwaarts zal dan blijken, dat zich bloedvaten ontwikkelen. Blijkbaar is het lichaam in staat den bacil te overwinnen. Men krijgt den indruk dat de virulentie niet zóó groot is, dat de bacillen het lichaam kunnen overmeesteren.

Met de pus van cavia IV,1 hebben wij wederom twee caviae intraperitoneaal ingespoten. (C IV, 11 en C IV, 12). Na 4½ maand stierf één dezer dieren ten gevolge van infectie met leverbot. Het andere proefdier bleef 6½ maand in leven, en bleek aan dezelfde ziekte gestorven te zijn. Bij de secties van deze beide proefdieren werd geen enkele afwijking, door den bacil veroorzaakt, gevonden.

Cavia V. Subcutaan ingespoten met 20 mgr. B.C.G. Gedurende het eerste halfjaar vertoonde dit proefdier geen enkel verschijnsel. Daarna werd een klein kliertje voelbaar in de linkerlies. Hiermede bleef het dier nog 4 maanden in leven zonder bijzonderheden te vertoonen. Het proefdier werd gedood 302 dagen na de inenting. In de lever werd leverbot gevonden. Er was veel bloederig vocht in de buikholte. Verdere afwijkingen werden niet waargenomen.

OVERZICHT DER SUBCUTANE ENTINGEN.

OORSPRONKELIJKE ENTINGEN				OVERENTINGEN					
Cavia	Hoeveelheid	Zuurvaste staafjes	Doodsoorzaak afwijkingen p. m.	Overentingen	Cavia	Aard v/h ingespoten materiaal	Zuurvaste staafjes	Doodsoorzaak afwijkingen p. m.	Overentingen
I	5 mgr.	geen	? geen	geen					
II	10 mgr.	in subcutane pus op insteekplaats	verbloeding p. p. ? absces insteekplaats	cavia II_1	II_1	pus C_I	geen	paraty B. geen	geen
III	10 mgr.	geen	gedood geen	geen					
IV	20 mgr.	in subcutane pus. In haardjes van het miltoppervlak	paraty B. subcutaan absces haardjes op het miltoppervlak	cavia IV_1	IV_1	pus C_{IV}	pus vit omentum	gedood. tuberkels in omento en o/h leveroppervlak	$C_{IV_{11}}$
					IV_{11} en $_{12}$	pus C_{IV_1}	geen	? geen	$C_{IV_{12}}$ geen
V	20 mgr.	geen	gedood geen	geen					

Een subcutane enting met 5—20 mgr. B.C.G. wordt dus blijkbaar door de caviae zonder schadelijke gevolgen verdragen, in dien zin dat het gezonde proefdier niet dood gaat tengevolge van de behandeling. Is uit deze proeven de avirulentie der B.C.G. in pathologisch-anatomisch, zoowel als in klinisch opzicht gebleken?

Wij vonden bij onze proefdieren duidelijke sporen van locaal inwerkende schadelijke stoffen met vorming van tuberkels, epithelioide cellen en reuzencellen. Dat ook andere „Fremdkörper" dergelijke locale afwijkingen kunnen veroorzaken kan hier niet aangevoerd worden als een bewijs voor de avirulentie. Immers wij hebben hier te doen met een levenden, bovinen tuberkelbacil die in staat is tuberkels te vormen. Er is hier dus een levend agens, dat in staat is locaal werkende schadelijke stoffen te produceeren. Dit is dus een uiting van, zij het ook sterk verzwakte, virulentie in pathologisch-anatomisch opzicht. Bij een kleine proefreeks, waarbij wij onze caviae met doode bacillen behandelden, bleken zich in omento en in mesenterio eveneens reuzencellen en tuberkels gevormd te hebben. Dit bewijst zooals wij reeds gezegd hebben, ons inziens niet dat daarom de levende B.C.G., die sterk daarop gelijkende afwijkingen vormt, avirulent is. De eerste afwijkingen zou men misschien kunnen rekenen tot „Fremdkörper-Tuberkulose" de laatste echter niet. In klinischen zin hebben wij geen enkel verschijnsel bij onze proefdieren kunnen waarnemen, dat ook maar eenigszins zou kunnen doen denken aan een infectie met virulente tuberkelbacillen. De proefdieren bleven volkomen gezond.

Beschouwen wij nu de overentingen onzer proefreeks. In het verslag der Ukraïnische Commissie lezen wij: en pratique la souche B.C.G. peut être considérée comme inoffensive . . . . et n'a pas provoqué l'apparition des tubercules spécifiques de réinfection."

Het is ons gelukt door overenting van den subcutanen etter van cavia IV in de buikholte van een andere cavia (IV, 1) tuberkels te verkrijgen in omento en op het leveroppervlak, waarin epithelioide cellen en reuzencellen waren aan te toonen.

Overenting dezer tuberkels gaf geen resultaat, maar wanneer het begrip „inoffensive" afhankelijk is van het feit dat men al of niet „tubercules spécifiques de réinfection" kan verkrijgen, moeten wij dan uit dit geval de conclusie trekken dat de B.C.G. niet „inoffensive" is? Laat ons het geval eens nader beschouwen. Cavia IV werd subcutaan ingespoten met 20 mgr. B.C.G., een aanmerkelijke

hoeveelheid dus. Het proefdier overleefde de enting slechts 9 dagen, en stierf tengevolge van een paratyphus B. infectie. Slechts op de insteekplaats vonden wij pusvorming, de eerste reactie dus op het ingebrachte materiaal. Van een eigenlijke localisatie kunnen wij hier niet spreken. De bacillen hebben eenvoudig slechts negen dagen onder de huid van het proefdier doorgebracht. Het is niet te verwachten, dat in zoo'n kort tijdsverloop de bacillen dusdanig zouden veranderen, dat zij in een tweede proefdier gebracht, geen enkele afwijking meer zouden vertoonen, zooals dit bij die overentingen het geval was, waar de bacillen vaak maanden lang in het oorspronkelijk geënte proefdier verbleven, alvorens ze in een ander proefdier werden overgeënt.

Dat wij dus bij overenting van pus van C. IV tuberkels krijgen, wil geenszins zeggen dat men deze tuberkels ,,tubercules spécifiques de réinfection'' mag noemen. Integendeel, het is onwaarschijnlijk dat een verblijf van negen dagen in een proefdier dezen bacil zóó sterk zou veranderen, dat hij in het geheel geen afwijkingen zou geven. Deze tuberkels die wij vonden zijn slechts ,,tubercules spécifiques d'infection'', geen ,,tubercules spécifiques de réinfection.''

Bovendien zijn daar de overentingen van Cavia IV, 1 om te bewijzen, dat bij een langdurig verblijf (4½ maand) de bacil in 't geheel niet meer in staat is om nog tuberkels te verwekken.

Tweede Proefreeks.

Intraperitoneale Entingen: (5—100 mgr.)

Cavia VI. Ingespoten met 5 mgr. B.C.G. intraperitoneaal. Bijna vijf en een halve maand bleef dit proefdier geheel normaal, zonder eenige afwijking te vertoonen. Toen begonnen zich verschijnselen van vitamine-C gebrek voor te doen. (verlammingen der achterpooten, haaruitval, sterke vermagering.) Wij merken hierbij op dat deze verschijnselen zich voordeden aan het einde van den winter, terwijl de proefdieren uitsluitend gevoed werden met wortelen, en slechts weinig zonlicht kregen. Deze verschijnselen verergerden langzamerhand zoo, dat besloten werd het proefdier te dooden. (234 dagen na de enting) Bij sectie bleek het peritoneum licht geprikkeld te zijn. Het colon was zeer sterk opgezet en gevuld met ingedikte, halfverteerde voedselmassa's. Eenig verschijnsel van infec-

tie door B.C.G. werd niet gevonden. Behalve de scorbutische darmafwijkingen, werden geen verdere duidelijke teekenen van een mogelijken scorbuut gevonden.

Cavia VII. Eveneens intraperitoneaal ingespoten met 5 mgr. B.C.G. Na drie weken bevond zich op de insteekplaats een zwelling van 2½ bij ½ c.M. Er ontwikkelde zich in den loop van de volgende 14 dagen, een subcutaan abscès dat naar buiten toe doorbrak. Na nogmaals 14 dagen was de perforatie-opening gecicatriceerd. Wij willen hierbij even aanstippen dat subcutane abscessen bij onze eerste proefreeksen meerdere malen voorkwamen. Bij de latere reeksen treft men dit verschijnsel niet aan. Dit moet waarschijnlijk worden toegeschreven aan een eenigszins andere techniek die wij bij onze laatste reeksen toepasten. Bij de eerste proefreeksen doorboorden wij huid en buikwand in twee tempo's, dus eerst perforatie van de huid, daarna in een tweede steek, perforatie van den buikwand. Bij onze latere proeven verrichten wij deze beide handelingen in één keer, zoodat de kans op besmetting van het subcutane weefsel door de naald veel geringer was.

142 dagen na de enting stierf het proefdier onder dezelfde verschijnselen als cavia VI. Bij sectie bleek zich op de insteekplaats van het peritoneum parietale een goed afgekapseld absces te bevinden, dat dikke pus bevatte. In het omentum dat vrij sterk verdikt was, bevond zich eveneens een afgekapseld haardje, waarin brokkelige pus. De liesklieren waren beiderzijds vergroot. Hoewel de milt macroscopisch geen afwijkingen vertoonde, bleek toch bij microscopisch onderzoek dat er zich een haardje in bevond met epithelioide cellen, omgeven door een zeer dun polymorfkernig infiltraatwalletje. Tusschen de epithelioïde cellen bevonden zich weer tallooze polymorfkernige. Er konden geen zuurvaste staafjes in het praeparaat worden aangetoond. De lieslymphklieren bleken in meerdere coupes kleine ophoopingen van epithelioïde cellen te bevatten. Er werden hier enkele zuurvaste staafjes gevonden. Een cavia werd zonder resultaat ingespoten met pus uit het omentum van cavia VII. Het dier leefde iets langer dan een half jaar, zonder afwijkingen te hebben vertoond. Bij de sectie werden geen bijzonderheden gevonden.

Cavia VIII. Intraperitoneaal ingespoten met 10 mgr. B.C.G. Het proefdier stierf na een week aan pneumonie. Op het peritoneum parie-

tale bevond zich op de insteekplaats een klein, vast, scherp omschreven knobbeltje. Van het aangedane longweefsel werd een gedeelte subcutaan ingebracht in een cavia, terwijl een tweede cavia subcutaan ingespoten werd met fijngewreven materiaal van het knobbeltje op het peritoneum parietale.

De eerste cavia stierf na negen dagen ten gevolge van een etterige phlegmone van borst- en buikhuid. Er bleek verder bij sectie een algemeen etterige serositis aanwezig te zijn. De pus bevatte geen zuurvaste staafjes, wel veel streptococcen. Het tweede dier bracht het er beter af en bleef volkomen gezond. Het werd gedood 340 dagen na de inspuiting. Bij de sectie bleek dat de lever sterk door leverbot was aangedaan, terwijl in de buikholte veel bloederig vocht aanwezig was. Eenig spoor van afwijkingen door B.C.G. veroorzaakt werd niet gevonden.

Cavia IX. Intraperitoneaal ingespoten met 10 mgr. B.C.G. Gedurende elf maanden vertoonde het proefdier geen afwijkingen, behoudens de eerste twee maanden, waarin zich op de insteekplaats een subcutaan absces ontwikkelde, dat naar buiten perforeerde, en ten slotte geheel cicatriseerde. De uitstroomende pus bevatte zuurvaste staafjes. Het proefdier stierf spontaan 341 dagen na de enting. Bij de sectie bleek zich in den buikwand een absces te bevinden, dat veroorzaakt was door een gemengde infectie van colibacillen en streptococcen en dat doorgebroken was in de buikholte, waar zich een etterige peritonitis had ontwikkeld. In de pus werden geen zuurvaste staafjes gevonden. Van eenigerlei door B.C.G. veroorzaakte anatomische afwijking werd niets gevonden.

Cavia X. Intraperitoneaal ingespoten met 25 mgr. B.C.G. Het proefdier stierf 12 dagen na de injectie zonder in dien tusschentijd eenig ziekteverschijnsel te hebben vertoond. Op de insteekplaats bevond zich op het peritoneum parietale een één m.M. groot, vast, verheven haardje van gelig witte kleur. Het leveroppervlak was bezaaid met geelwitte scherp omschreven, één tot twee m.M. groote, iets verheven haardjes. Bij fijnwrijven dezer haardjes werden zuurvaste staafjes gevonden. Het omentum was sterk verdikt, deegachtig van consistentie. Bij doorsnijding vloeide uit het sneevlak dikke, roomgele pus, die zuurvaste staafjes bevatte. Overigens werden geen specifieke afwijkingen geconstateerd. Twee caviae werden

wederom intraperitoneaal ingespoten met de brij van de lever, de milt en het omentum van cavia X, namelijk X, 1, en X, 2. Cavia X, 1 leefde ruim 8 maanden. Op de insteekplaats ontwikkelde zich een subcutaan absces, dat naar buiten perforeerde. De uitstroomende pus bevatte zuurvaste staafjes. Twee maanden na de inspuiting was deze perforatie-opening geheel gecicatriceerd. Het proefdier vertoonde nadien geen enkele afwijking meer. Ruim acht maanden na de inspuiting werd deze cavia gedood. Bij de sectie werd geen enkele afwijking geconstateerd.

Cavia X 2 vertoonde een volmaakt gelijk verloop. Ook hier ontwikkelde zich een subcutaan absces, dat spontaan genas in ongeveer hetzelfde tijdsverloop. Het proefdier vertoonde overigens, behoudens een lichte beiderzijdsche liesklierzwelling die na ongeveer 3 maanden weer verdween, geen enkele afwijking gedurende het verdere leven. Het proefdier werd gedood 325 dagen na de inspuiting. Behoudens een zeer klein, scherp omschreven, afgekapseld absces op het peritoneum parietale, dat lichtgele dikke pus bevatte, waarin geen zuurvaste staafjes konden worden aangetoond, werd geen enkele afwijking geconstateerd.

Wij hebben hier te doen met een zelfde geval als bij cavia IV. Ook hier valt op de korte levensduur der oorspronkelijk ingespoten cavia X. Slechts 12 dagen leefde het proefdier na de inenting. Ook hier vragen we ons dus weer af: is deze tijd wel lang genoeg om den bacil in corpore dusdanig te veranderen, dat wij bij de overenting geen sporen van het organisme terugvinden? Wij verwijzen hierbij naar de bespreking aan het slot onzer eerste proefreeks.

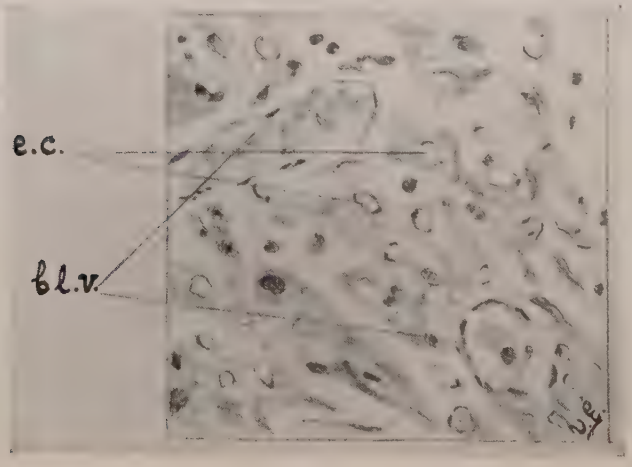
Tevens blijkt hieruit dat niet alleen een kortstondig verblijf van den bacil onder de huid geen noemenswaardigen invloed heeft, maar dat ook een kort verblijf in de buikholte blijkbaar op den B.C.G. niet zulk een invloed heeft, dat hij niet meer in staat is bij overenting op een ander proefdier, pathologisch—anatomische veranderingen te weeg te brengen.

Cavia XI. Intraperitoneaal ingespoten met 25 mgr. B.C.G. Het dier bleef gedurende bijna een jaar geheel gezond, en bracht drie jongen ter wereld. Het dier werd 343 dagen na de inspuiting gedood. Er werd geen spoor meer van de aanwezigheid van den B.C.G. gevonden.

Fig. III.
Bloedvaten in het bindweefsel van een B.C.G. tuberkel.

l.p. leverparenchym. blv. bloedvaten.

Fig. IV.
Bloedvaten in het centrum van een B.C.G. tuberkel.



e.c. epithelioïde cellen. blv. bloedvaten.

Cavia XII. Intraperitoneaal ingespoten met 50 mgr. B.C.G. Behoudens een zeer kleine subcutane zwelling op de insteekplaats, die na ongeveer 2½ maand verdwenen was, vertoonde het dier geen afwijkingen. Ongeveer 100 dagen na de inenting traden bij het proefdier verschijnselen op, die sterk leken op die, welke wij waarnamen bij cavia VI. Het proefdier werd gedood 106 dagen na de inenting. Bij deze cavia XII echter werden in tegenstelling met cavia VI geen duidelijke sporen van scorbuut waargenomen. Er was een lichte algeheele peritonitis. Het geheele peritoneum parietale was daarenboven bezaaid met scherp omschreven, geelwitte haardjes, duidelijk promineerend, die deden denken aan het beeld der parelziekte. De pus in de haardjes die bij microscopisch onderzoek tuberkels bleken te zijn, bevatte zuurvaste staafjes.

Het omentum was sterk verdikt en bevatte een, door een dikken bindweefselwand afgekapseld, absces (5—3 c.M.), dat kaasachtige pus bevatte, waarin zuurvaste staafjes.

De milt was zeer sterk verkleefd met de linkernier. De lever was sterk verkleefd met het diafragma. De darm was op één plaats vast verkleefd met het peritoneum parietale. De darmlissen zelf waren op tallooze plaatsen verkleefd. Op het leveroppervlak bevond zich een groote afgekapselde haard. Een viertal kleinere promineerende, geelwitte haardjes op het leveroppervlak bleken evenals de groote leverhaard pus te bevatten, waarin zuurvaste staafjes werden gevonden. Op de milt bevonden zich eveneens tallooze kleine, goed omschreven haardjes, die eveneens pus bevatten. Opvallend was, dat de bacillen uit den etter in het omentum zeer zwak kleurbaar waren, terwijl die uit lever- en peritoneum-haardjes duidelijk zuurvast waren.

Het microscopisch onderzoek van de lever bracht aan het licht, dat de haarden op het leveroppervlak typische tuberkels waren, met de voor B.C.G. kenmerkende polymorfkernigen tusschen de epithelioïden en reuzencellen verspreid, en een sterke bindweefselwoekering. De kleuring op tuberkelbacillen gaf tallooze zuurvaste staafjes in de tuberkels te zien.

Wij plaatsen hiernevens een foto van een tuberkel van het leveroppervlak, waarbij de sterke neiging tot bindweefselvorming duidelijk is uitgesproken, en zelfs meerdere bloedvaten niet alleen in de bindweefselkapsel, maar ook binnen dezen kapsel, meer centraalwaarts gevonden worden.

De haardjes op het miltoppervlak bleken eveneens tuberkels te zijn, evenals de afwijkingen op het peritoneum parietale.

Hier werd dus voor het eerst in deze proefreeks een dier gevonden, dat na meer dan drie en een halve maand een zeer sterke afwijking in abdomine vertoonde, zonder dat ook maar eenige afwijking in de longen was te vinden. Eigenaardig is ook het feit, dat het parenchym van lever en milt onaangetast bleef, zooals in al onze proeven. Dit alles pleit toch wel sterk voor de uiterst geringe virulentie der B.C.G. Drie en een halve maand leefde het dier met groote afwijkingen in abdomine, de geheele thorax bleef intact, klinisch vertoonde het proefdier geen enkel verschijnsel, dat op een actief tuberculeus proces wees.

Er werden twee caviae ingespoten met de pus uit het omentum, namelijk cavia XII, 1, en cavia XII, 2. Cavia XII 1 leefde zonder eenige afwijking te hebben vertoond, iets meer dan twee maanden. Het proefdier stierf 66 dagen na de inspuiting aan pseudo-tuberculose. Cavia XII, 2 bleef een half jaar in leven en werd gedood 186 dagen na de inspuiting. De sectie leverde geen bijzonderheden op. Wij verwijzen hier nogmaals naar de overentingen van cavia X en vooral naar die van cavia IV, waarbij wij positieve resultaten verkregen. Echter leefden de oorspronkelijke caviae IV en X slechts respectievelijk 9 en 12 dagen, terwijl dit proefdier 106 dagen leefde. De overentingen van cavia XII accentueeren wederom wat wij bij caviae IV en X zeiden, n.l. dat een verblijf van negen tot twaalf dagen hoogst waarschijnlijk niet lang genoeg is om den bacil zoodanig te verzwakken, dat wij bij onze overentingen geen resultaten zien. Cavia XII leefde 106 dagen. Dit tijdsverloop bleek lang genoeg om den bacil zoodanig te verzwakken dat het organisme bij de overenting geen sporen van zijn aanwezigheid meer naliet.

Cavia XVIII vormt hierop zooals wij zullen zien een uitzondering. Hoewel de bacil in dit geval slechts drie dagen in de buikholte van het proefdier bleef, gaf een overenting toch negatieve resultaten. Dat hierbij individueele verschillen der proefdieren een rol spelen is niet onmogelijk. Wel blijkt hieruit dat zelfs een zeer kort verblijf in de buikholte, onder sommige omstandigheden den bacil zoodanig kan verzwakken dat bij overenting geen spoor van pathologisch-anatomische veranderingen meer is te vinden.

Cavia XIII. Intraperitoneaal ingespoten met 50 mgr. B.C.G. Een week na de inspuiting was een schijfvormige zwelling te voelen op de insteekplaats. Deze zwelling bleef het geheele verder leven bestaan. Het proefdier stierf 106 dagen na de inenting onder avitaminotische verschijnselen. Bij de sectie bleek er geen opvallend sterke scorbuut aanwezig te zijn. De milt was verkleefd met de linkernier. De lever vertoonde geen haardjes aan de oppervlakte of in de doorsnede. Ook bij microscopisch onderzoek werden geen specifieke afwijkingen gevonden. In de rechterlies bevonden zich drie groote gezwollen liesklieren, waarvan er één verweekt was. De pus uit deze laatste bevatte veel zuurvaste staafjes, evenals de pus die zich bevond in het afgekapselde absces op de insteekplaats. Wederom werd een cavia intraperitoneaal ingespoten met pus van cavia XIII. Dit proefdier dat meer dan zeven maanden leefde, en gedurende dien tijd geen enkele afwijking vertoonde, werd 220 dagen na de inspuiting gedood. De sectie leverde geen bijzonderheden op.

Cavia XIV. Intraperitoneaal ingespoten met 50 mgr. B.C.G. Na drie maanden stierf dit proefdier zonder eenigerlei klinische afwijking te hebben vertoond. Bij de sectie bleek echter dat de afwijkingen in de buikholte veel uitgebreider waren, dan men bij dezen voortdurenden gunstigen gezondheidstoestand zou mogen verwachten. Op de insteekplaats bleek zoowel subcutaan als op het peritoneum parietale een goed afgekapseld absces zich gevormd te hebben, dat kaasachtige pus bevatte, waarin vele zuurvaste staafjes konden worden aangetoond.

Het omentum bleek enorm verdikt te zijn, en was vrij vast van consistentie. Behalve een bijna kersgroot, met kaasachtige pus gevuld absces, was het omentum geheel gevuld met kleinere abscessen, die eveneens kaasachtige, ietwat brokkelige pus bevatten.

Het omentum was verkleefd met milt, dunne darm, linkernier, middenrif en lever. Darmen, nieren en bijnieren vertoonden geen afwijkingen, evenmin de milt. Op het leveroppervlak bevonden zich kleine, afgekapselde, promineerende haardjes, ½—1½ m.M. groot. Er was pus uit te drukken die zuurvaste staafjes bevatte. Het mesenteriale lymphfklierapparaat was gezwollen.

Bij microscopisch onderzoek bleek het omentum tuberkels te bevatten, wederom met een sterke bindweefselvorming en een sterk

infiltraat van polymorfkernige leucocyten. Ook in de verklevingen van milt en dunne darm met het omentum bleken zich tuberkels te hebben gevormd. De haardjes op het leveroppervlak vertoonden eveneens het typische beeld van den „B.C.G. tuberkel." Hoewel wij hier geen compliceerende ziekte hadden zooals bij cavia XII blijkt toch, dat niet onder alle omstandigheden de bacil geresorbeerd wordt, zonder groote afwijkingen te veroorzaken.

Wanneer men echter bij infectie met virulente tuberkelbacillen dusdanige groote afwijkingen zou vinden als wij hier aantreffen na een inspuiting met B.C.G., dan zou men toch zeer zeker ook elders in het lichaam, speciaal in de longen, vrij belangrijke afwijkingen hebben gevonden. Het feit, dat de longen geheel normaal bleken, pleit in dit geval voor de avirulentie van den bacil. Voegt men hierbij de reeds vermelde negatieve resultaten der overenting dan moet men toch wel toegeven, dat deze bovine stam nog maar uiterst weinig meer bezit van de gevaarlijke eigenschappen die een normalen, niet verzwakten stam eigen zijn.

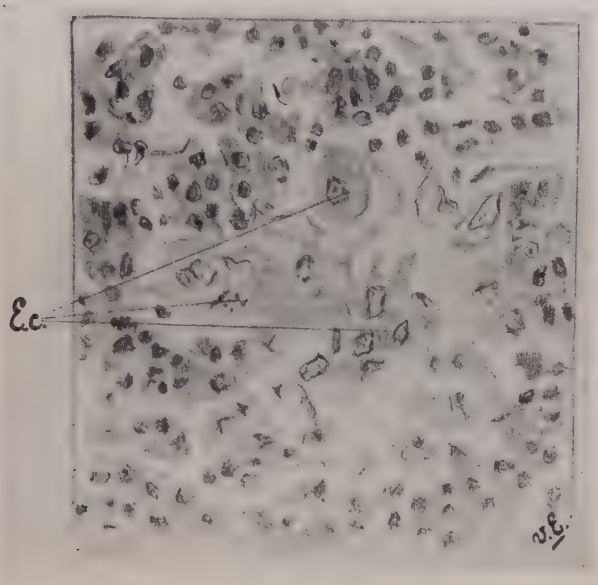
Het klinische beeld is hier dan ook wel in zeer sterke tegenstelling met de pathologisch-anatomische afwijkingen.

Geen der overentingen (C XIV, 1 en C XIV, 2), die zes en een halve maand in leven bleven, vertoonde bij de sectie eenigerlei afwijking.

Cavia XV. Intraperitoneaal ingespoten met 50 mgr. B.C.G. Drie weken na de injectie ontwikkelde zich een schijfvormige zwelling op de insteekplaats, 3 bij 1 c.M. groot. Ongeveer vier en een halve maand na de injectie was van deze zwelling, die langzaam kleiner geworden was, niets meer te bespeuren. Tien maanden na de inspuiting werd het proefdier gedood. Het was gedurende dezen tijd volkomen gezond gebleven.

Bij de sectie werd een peritonitis gevonden met licht troebel vocht in den buik. Op het peritoneum parietale bevond zich een boongroote afgekapselde haard. Deze haard, die zeer sterk promineerde, bevatte roomdikke witte pus, met zeer veel zuurvaste staafjes. Over het peritoneum parietale waren nog zes veel kleinere (1—2 m.M.), soortgelijke aandoeningen verspreid, eveneens pus bevattend met veel zuurvaste staafjes. Op het leveroppervlak bevonden zich tallooze gele, scherp omschreven haardjes, vast van consistentie, met

Fig. V.
Lieslymphklier van cavia XV.



e.c. epithelioïde cellen.

sterke, radiair verloopende intrekkingen van het leverweefsel. In de rechter leverkwab bevond zich een zeer groote cyste, door leverbot veroorzaakt. Het omentum, dat sterk verdikt was, bevatte een 3—1 c.M. groot absces, roomdikke witte pus bevattend, met tallooze zuurvaste staafjes.

Milt en linker nier waren stevig verkleefd. In de verkleving bevond zich een afgekapseld absces, dat geelwitte dikke pus bevatte, waarin tallooze zuurvaste staafjes konden worden aangetoond. Vele dunne darmlissen waren sterk verkleefd. De mesenteriaalklieren, evenals het overige lymphfklierapparaat, vertoonden een vrij aanzienlijke zwelling. Microscopisch bleek, dat mesenteriaal- en lieslymphfklieren tallooze epithelioide cellen bevatte, echter geen reuzencellen. De haarden op het leveroppervlak bleken tuberkels te zijn. De omgevende bindweefselwand was opvallend dik. Er werd binnen dezen wal weer een sterk polymorfkernig infiltraat waargenomen, tusschen de epithelioide cellen. Meerdere tuberkels vertoonden centrale regressie.

Het omentum vertoonde microscopisch hetzelfde beeld, als de leverhaardjes en de haardjes op het peritoneum parietale. In de longen werd geen enkele afwijking gevonden.

Resumeerende vinden we hier dus een proefdier, dat tien maanden na de injectie, in volmaakte gezondheid, toch enorme afwijkingen in abdomine vertoonde. Ondanks de sterke verspreiding van de bacillen door de geheele buikholte, was hun virulentie toch blijkbaar zóó gering, dat zij het proefdier geen klinisch waarneembare tuberculose konden bezorgen.

Ook het feit, dat in de longen geen spoor van de aanwezigheid van den bacil kon worden gevonden, pleit voor zijn goedaardigheid. Zelfs bij enorme afwijkingen in abdomine, die maanden hebben bestaan, vindt men geen spoor van generalisatie.

Ook het feit, dat klinisch aan de dieren gedurende dien tijd niets te bespeuren viel, pleit voor de geringe virulentie der bacillen.

De overentingen, die een half jaar leefden, vertoonden bij de sectie geen enkele afwijking. Een bewijs te meer voor de uiterst geringe virulentie van den B.C.G.

Cavia XVI. Intraperitoneaal ingespoten met 75 mgr. B.C.G. Negen dagen na de injectie ontstond op de insteekplaats een ovale,

½ c.M. groote, zwelling. Deze zwelling bleef bestaan tot aan den dood van het proefdier. (49 dagen na de inspuiting). Het proefdier stierf tengevolge van een paratyphus-B infectie. Bij sectie werd bovendien subcutaan op de insteekplaats een aanzienlijke hoeveelheid pus gevonden. Op het peritoneum parietale bevond zich een scherp omschreven haardje, dat pus bevatte. De milt was vergroot. Op het leveroppervlak werden wederom eenige afgekapselde haardjes gevonden, die geen pus bevatten.

Het omentum bevatte dikke pus. Lichte verklevingen van de lever met darmlissen waren aanwezig. De pus van de insteekplaats en uit het omentum bevatte zuurvaste staafjes in menigte. Met het oog op den gevonden paratyphus B werd niet verder overgeënt.

Cavia XVII. Intraperitoneaal ingespoten met 75 mgr. B.C.G. Na 23 dagen stierf het proefdier. De doodsoorzaak kon niet worden vastgesteld. Bij sectie bleek zich wederom op de insteekplaats dikke pus te hebben ontwikkeld, die tallooze zuurvaste organismen bevatte. Ook het omentum bevatte pus. Met deze pus werden vier proefdieren ingespoten, namelijk C XVIII, 1, 2, 3, 4.

Twee caviae stierven respectievelijk aan paratyphus B en aan staphylococcensepsis. De twee overige werden gedood na 7½ en 8½ maand. Bij de sectie werden geen afwijkingen gevonden.

Cavia XVIII. Intraperitoneaal ingespoten met 50 mgr. B.C.G. Drie dagen na de inspuiting stierf het proefdier aan een paratyphus B infectie. Op de insteekplaats bleek zich reeds een vrij aanzienlijke hoeveelheid pus gevormd te hebben. Ook in het omentum, dat reeds sterk verdikt was, had zich pus ontwikkeld. Op de milt bevonden zich eenige scherp afgekapselde, iets promineerende haardjes, die pus bevatten met tallooze zuurvaste staafjes.

Er was een lichte ontsteking van het peritoneum hepatis met locale pusvorming, zonder duidelijke afkapseling, waarvan het afstrijkpreparaat zuurvaste staafjes bevatte.

Met pus uit het omentum van cavia XVIII werd een tweede cavia ingespoten. Deze cavia, die meer dan acht maanden leefde, vertoonde tijdens het leven geen enkele afwijking. Bij de sectie werden geen bijzonderheden gevonden.

Cavia XIX. Intraperitoneaal ingespoten met 100 mgr. B.C.G. Het

proefdier, dat gedurende het leven geen enkele afwijking vertoonde, stierf spontaan 106 dagen na de inspuiting. Het bleek, dat een linkszijdige pneumonie en een algemeene ontsteking der sereuze vliezen den dood had veroorzaakt. Noch macroscopisch, noch microscopisch werd eenige specifieke afwijking gevonden, die door den B.C.G. veroorzaakt zou kunnen zijn. Zuurvaste staafjes konden niet worden aangetoond.

Tenslotte *cavia* XX.

Ingespoten met 75 mgr. B.C.G., intraperitoneaal. Na 301 dagen werd het proefdier gedood. De sectie gaf het beeld te zien van een volkomen normale cavia.

Conclusie:

Beschouwen wij de oorspronkelijke intraperitoneale inspuitingen, dan valt ons in de eerste plaats op, dat een zeer groot percentage der proefdieren de inderdaad enorme hoeveelheden (tot 100 mgr.) B.C.G. ongestraft heeft verdragen. Uit deze proefreeks is tevens gebleken, dat een avirulentie in zooverre niet aanwezig is, dat wij bij tallooze proefdieren specifieke pathologisch-anatomische afwijkingen gevonden hebben. Wij verwijzen voor een gedetailleerde beschouwing naar de protocollen der betreffende dieren.

Zooals wij reeds bij onze subcutane entingen besproken hebben, kan het feit, dat ook doode bacillen aanleiding kunnen geven tot vorming van tuberkels, niet aangevoerd worden als bewijs voor de avirulentie van den B.C.G. Wij hebben hier te doen met een levenden, weliswaar verzwakten, bovinen tuberkelbacil, die specifieke afwijkingen geeft, zooals die bekend zijn bij infectie met gewone tuberkel bacillen, hoewel de verminderde virulentie van den stam niet alleen uit het pathalogisch-anatomisch beeld, maar nog veel sterker door het ontbreken van eenig klinisch verschijnsel naar voren komt.

Enkele proefdieren verdienen in verband met onze verdere proefnemingen eenige nadere beschouwing. Het zijn die proefdieren, welke, hetzij gedood werden, hetzij door een compliceerende ziekte stierven, en bij de sectie afwijkingen vertoonden, die veel ernstiger waren dan wij bij onze vorige proefdieren vonden. Wij meenen de proefdieren XII, XIV en XV.

Wij leggen ons bij deze gevallen de vraag voor: „Is hier sprake van een virulentie-toeneming?"

OVERZICHTS-TABEL der Entingen en Overentingen met het middel van Calmette en Guérin ter voorbehoedende onvatbaarmaking tegen tuberculose. (B. C. G.)

OORSPRONKELIJKE ENTINGEN				OVERENTINGEN				
Cavia	Hoeveelheid B. C. G.	Levensduur	Specifieke afwijkingen	Overentingen	Cavia C.	Aard v/h ingebrachte materiaal	Levensduur	Specifieke afwijkingen
I	subcutaan 5 mgr.	341 dagen	geen	geen				
II	„ 10 „	73 „	+	cavia II_1	II_1	pus CI	2 dagen	geen
III	„ 10 „	152 „	geen	geen				
IV	„ 20 „	9 „	+	cavia IV_1	IV_1	pus CIV	250 „	tuberkels in omento en op leveroppervlak
V	„ 20 „	302 „	geen	geen				
VI	intrapetitoneaal 5 mgr.	234 „	geen	geen				
VII	„ „ 5 „	142 „	+	cavia VII_1	VII_1	pus CVII	187 „	geen
VIII	„ „ 10 „	6 „	+	caviæ $VIII_1$ en 2	$VIII_1$	haard peritoneum CVIII	9 „	geen
					$VIII_2$	„ „ „	340 „	geen
IX	intraperitoneaal 10 mgr.	341 dagen	geen	geen				
X	„ „ 25 „	12 „	+	caviæ X_1 en 2	X_1	brij v. lever, milt, omentum Cx	282 „	geen
					X_2	„ „ „ „ „ „	325 „	geen
XI	intraperitoneaal 25 mgr.	343 dagen	geen	geen				
XII	„ „ 50 „	106 „	+	cavia XII_1 en 2	XII_1	pus omentum CXII	66 „	geen
					XII_2	„ „ „	186 „	geen
XIII	intraperitoneaal 50 mgr.	106 dagen	+	cavia $XIII_1$	$XIII_1$	pus lymphklier CXIII	220 „	geen
XIV	„ „ 50 „	88 „	+	caviæ XIV_1 en 2	XIV_1	pus omentum CXIV	197 „	geen
					XIV_2	„ „ „	197 „	geen
XV	intraperitoneaal 50 mgr.	313 dagen	+	caviæ XV_1 en 2	XV_1	„ „ CXV	169 „	geen
					XV_2	„ „ „	169 „	geen
XVI	intraperitoneaal 75 mgr.	49 dagen	+	geen				
XVII	„ „ 75 „	23 „	+	caviæ $XVII_{1-4}$	$XVII_1$	pus omentum CXVII	195 „	geen
					$XVII_2$	„ „ „	264 „	geen
					$XVII_3$	„ „ „	264 „	geen
					$XVII_4$	„ „ „	10 „	geen
XVIII	intraperitoneaal 50 mgr.	3 dagen	+	cavia $XVIII_1$	$XVIII_1$	„ „ „	255 „	geen
XIX	„ „ 100 „	106 „	geen	geen				
XX	„ „ 75 „	301 „	geen	geen				

Van een generaliseering kan niet gesproken worden. De zwelling van het geheele lymphklierapparaat, zooals wij bij sommige dezer dieren vonden, zou men misschien een oogenblik kunnen houden voor een symptoom van een verspreiding door het geheele lichaam.

Echter moeten wij er onmiddellijk aan toevoegen, dat alleen in de liesklieren pathologisch-anatomische veranderingen gevonden werden, die wezen op een invasie met B.C.G. In het overigens weliswaar gezwollen lymphklierapparaat konden wij geen tuberkel bacillen aantoonen; evenmin vonden wij pathologisch-anatomische afwijkingen, die duidden op de aanwezigheid van den B.C.G. Wij zien bij deze proefdieren tallooze darmverklevingen met een soms vrij ernstige algemeene peritonitis. De oppervlakten der parenchymateuze organen in abdomine zijn bezaaid met kleine tuberkels, maar in het parenchym zelve kunnen wij geen enkele aantoonbare afwijking constateeren. Terwijl de bacil door het geheele abdomen verspreid is, kunnen wij in den thorax geen spoor van den bacil ontdekken. Al deze, ten opzichte van de werking van virulente tuberkelbacillen sterk afwijkende verschijnselen, pleiten ons inziens tegen een verhoogde virulentie. Tegen het aannemen van een virulentie-vermeerdering pleit ons inziens ook het feit, dat de overentingen mislukten. Vele dieren leefden meer dan een half jaar volkomen normaal, en bij de sectie werd geen enkele afwijking gevonden. Het lijkt ons weinig waarschijnlijk, dat, indien metterdaad de bacillen virulenter geworden waren, men bij een overenting op een zoo gevoelig proefdier als de cavia, hiervan niets bespeurt. Noch in klinischen noch in pathalogisch-anatomischen zin konden wij bij één der proefdieren ook maar iets vinden dat wees op een generaliseering van het proces.

Eindconclusie der eerste en tweede proefreeks.

Een avirulentie in dien zin, dat geen afwijkingen ontstaan tengevolge van specifieke, locaal schadelijk werkende stoffen is niet aanwezig. Zelfs bij proefdieren, die vele maanden na de inspuiting gedood werden, vonden wij soms zeer uitgebreide, typische, locale afwijkingen. Moge de bacil dus in pathologisch-anatomischen zin een zekere virulentie bezitten, in klinisch opzicht hebben wij geen feiten gevonden, die zouden kunnen pleiten voor de aanwezigheid van virulentie, van nosogene eigenschappen.

HOOFDSTUK III.

Dat de voedingstoestand van een organisme een belangrijke rol speelt bij het verloop van infectieziekten is een bekend feit. BIELING heeft den invloed van den voedingstoestand op het verloop van een tuberculeus proces nader onderzocht[1]). Hij voedde tuberculeuze caviae met vitamine-C-arm voedsel. Deze dieren kregen in den loop van eenige maanden zeer langzaam scorbuut. De aandoening trad bij tuberculeuze dieren sneller op dan bij niet-geïnfecteerde proefdieren. Chronisch-tuberculeuze caviae, gevoed met vitamine-C-arm voedsel, stierven lang voordat de contrôledieren bezweken.

Bij proeven met andere bacterieele infecties bleek hem, dat de vorming van antilichamen, speciaal antitoxinen, sterk geremd werd. Eveneens is uit het dierexperiment gebleken, dat bij processen, waar antilichamen en immuumlichamen, in den strengen zin van het woord, geen wezenlijken rol spelen, zooals bij de tuberculose, de voeding toch van zeer groote, soms beslissende beteekenis is voor het ziekte-verloop. Hij wijst aan het slot van zijn artikel dan ook op het belang van deze feiten bij de enting van kinderen en eischt, dat bijzondere aandacht worde besteed aan den voedingstoestand der behandelden.

A. LAWRYNOWICZ en S. BOHDANOWICZ hebben nagegaan, welke de invloed is van een slechte voeding op de ontwikkeling van een tuberculeus proces bij de witte muis. Ook zij vonden, dat een hongerdieet het proces beïnvloedde. 25 % van de dieren kregen tuberculose van long en lever, wanneer ze geënt werden met 0,1 mgr. tuberkelbacillen, terwijl de normaal gevoede proefdieren niet aangetast werden door dezelfde hoeveelheid.

TZEKNOWITZER[2]) herhaalde deze proeven met het vaccin van CALMETTE en GUERIN. Hij voedde zijn caviae met haver, water en gesteriliseerd hooi. Van de 26 caviae, die hij voor deze proef ge-

[1]) Deutsch Mediz. Wochenschr. 1927, No. 5, bldz. 182—183; No. 6, bldz. 228—230.

[2]) Ann. de l'inst. Past. T. XLI. 1927, No. 3, bldz. 322—357.

bruikte, werden er 18 histologisch onderzocht. De overige leefden nog aan het einde der proef. Deze 18 proefdieren die onderzocht werden, waren niet gestorven door het vitamine-arme dieet, doch werden gedood. „D'autre part 26 cobayes ont été affaiblis par la diète avtaminée. 18 furent étudiés histologiquement. Les autres étaient encore vivants à la fine de l'expérience". De proefdieren namen regelmatig in gewicht af. Ondanks deze belangrijke beschadiging van het organisme heeft de inenting met B.C.G. geen klinisch tuberculeus proces bij een proefdier kunnen verwekken. Slechts plaatselijke vorming van tuberkels werd gevonden: „Pourtant l'inoculation de B.C.G.n'a pas fait apparaître chez ces animaux de processus tuberculeux. Ses efforts se bornèrent à des reactions locales d'intensité diverse".

Wij laten hieronder een tabel volgen, waarin de belangrijkste gegevens der proeven vermeld worden.

Inoculation		Diète avitaminé morts par causes étrangères	vivants	delai d'observation
Intracardiaque 10-40 mgr. B.C.G.	6	5	1	7 jours à 2 mois.
Intraperitoneale 100 mgr.	5	5		22 jours à 1 mois, 6 jours,
Sous-cutanée 5-100 mgr.	15	6	9	1 mois à 2½ mois.
	26	16	10	

Bij het microscopisch onderzoek werd gevonden:

1. Bij de intracardiale inspuitingen: „pas d'altérations spécifiques dans les organes parenchymateux: bacilles acido-résistants dans les poumons, rate, dans l'abscès sous le pericarde".
2. Bij de intraperitoneale inspuitingen: „pas d'altérations spécifiques, abscès spécifiques limités intrapèritoneaux sur l'épiploon, la rate et la foie. Bacilles acido-résistants dans les poumons, la rate et dans les abscès".
3. Bij de subcutane entingen: „infiltrations souscutanées et abscès aux points d'inoculations qui parfois s'ouvrent et se

cicatricent. Abscès spécifiques souscutanées. Cellules géantes aspécifiques. Bacilles acido-résistants dans les abscès souscutanées et dans la rate."

Uit deze mededeelingen zien wij, dat men sterk den nadruk legt op de pathologisch-anatomische verandering door den B.C.G. bij deze proefdieren veroorzaakt. Zooals blijkt treft men alleen plaatselijke afwijkingen aan, waaruit de gevolgtrekking gemaakt wordt, dat ook uit deze proefreeks wederom de onschadelijkheid van den B.C.G. is komen vast te staan. Hoe de contrôle-dieren zich gedroegen, óf die die er wel geweest zijn, wordt niet vermeld. Of er dus eenig verschil tusschen deze laatsten en de ingespoten dieren bestond, komt men niet nader te weten. En toch is dit, zooals uit onze proeven zal blijken, van belang. BIELING wijst in zijn proeven juist op de typische verschillen. Zijn ondervoede dieren stierven lang voordat de contrôledieren bezweken. Uit BIELING'S proeven blijkt duidelijk, dat vitamine-C gebrek het tuberculeus proces, veroorzaakt door virulente tuberkelbacillen, verhaast. Uit de proeven van TZECHNOWICZER komt men hierover niets te weten. Een duidelijke invloed der behandeling met B.C.G. bij ondervoede dieren blijkt niet. Het is niet alleen van beteekenis te onderzoeken, of de bacil zelve bij een ondervoed of slecht gevoed proefdier ernstige afwijkingen kan veroorzaken, maar ook of een inspuiting bij zulk een proefdier den algemeenen weerstand niet zoodanig kan verzwakken, dat het proefdier veel sneller sterft tengevolge van het voedselgebrek dan een niet ingespoten proefdier. Tenslotte is het belangrijk te weten, of beide oorzaken tezamen niet in staat zijn het dier zoodanig „algemeen" te verzwakken, dat het kachectisch ten gronde gaat. Iets dergelijks toch vonden Aschoff en Koch bij secties in Roemenië verricht op scorbutisch gestorven chronische tuberculose patiënten [1]). Daarbij deden zij de ervaring op, dat noch een zware vorm van scorbuut, noch een zware tuberculose als doodsoorzaak kon worden opgegeven. Waarschijnlijk zullen dus hier vóórdat het tuberculeuze proces den dood kon veroorzaken de patiënten overleden zijn tengevolge van de combinatie der tuberculose en de scorbuut, waarbij dus geen der beide processen gelegenheid heeft gehad zich tot een duidelijk ziektebeeld te ontwikkelen.

[1]) Deutsch Mediz. Wochenschr. 1927, No. 5, S. 182—183, ibid. No. 6, S. 228—230.

Wij meenen, dat de proeven, die wij in deze richting genomen hebben, hierin eenig licht kunnen brengen.

Wij hebben ons bij deze proeven niet alleen de vraag voorgelegd, of de B.C.G. in een slecht gevoed lichaam een grootere virulentie kan ontplooien, maar ook of het inbrengen van een hoeveelheid B.C.G. op zichzelf in zoo'n slecht gevoed lichaam de schadelijke gevolgen van die abnormale voeding sterker op den voorgrond doet treden, met andere woorden, of de bacil hier min of meer provoceerend werkt. Tenslotte hebben wij onderzocht, of de inwerking dezer verzwakkende factoren te zamen ook noodlottig kon zijn.

Wij hebben twee proefreeksen ingezet. Eén proefreeks met een volkomen avitaminotischen grondkost, en één met een vitamine-C arm dieet.

Wij zullen beide proefreeksen achtereenvolgens beschrijven.

Eerste Proefreeks. Avitaminotische grondkost.

Wij maakten gebruik van een grondkost samengesteld volgens onderstaand recept:

Caseine	18
Suiker	4
Amylum oryzae	54
Margarine	16
Filtreerpapier	4
Zoutmengsel vlgs. Mc. Collum No. 185	4

Dit zoutmengsel had de volgende samenstelling:

Na Cl	0,173
Mg So2	0,266
Na2 HPO4 H2O	0,347
K2 HPO4	0.954
Ca H2 PO4 H2O	0,540
Lactas calcicus	0,300
Lactas ferrosus	0,118

Na een voorproef met 4 caviae ter bepaling van de werking van den grondkost, werden 6 caviae intraperitoneaal ingespoten met 50 mgr. B.CG. Deze caviae werden op grondkost gezet. 3 andere

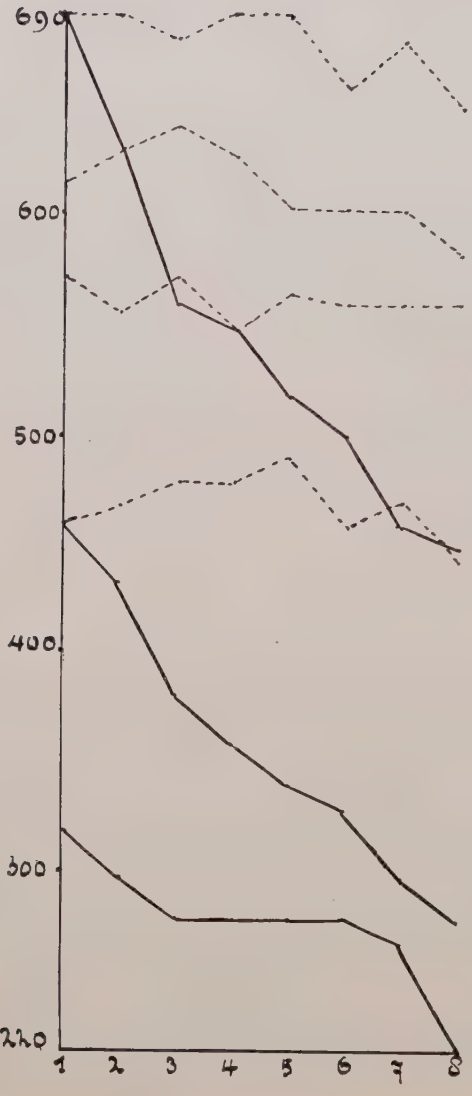
caviae, met dezelfde hoeveelheid B.C.G. ingespoten, kregen normale voeding. Een derde groep van 3 caviae werd niet ingespoten en kreeg grondkost. De „grondkost-caviae" ingespoten met B.C.G. stierven na 9 en 10 dagen. Bij de sectie vonden wij afwijkingen, die zeer sterk geleken op die, welke TZEKNOWITZER vond. In de parenchymateuze organen konden geen specifieke afwijkingen worden gevonden. Bij alle caviae vonden we een vrij sterk verdikt omentum. Op lever en milt vonden we meerdere kleine tuberkels met zuurvaste staafjes. Een cavia had een subcutaan absces op de insteekplaats met tallooze zuurvaste staafjes in de pus. De longen waren normaal. Overentingen (normale voeding) bleven volkomen negatief. Wat de virulentie betreft vonden wij dus geen verschijnselen, die aanleiding gaven om een vermeerderde virulentie te veronderstellen. Wanneer wij nu echter den levensduur der verschillende caviae eens aan een nader onderzoek onderwerpen, dan komen er eenige interessante feiten aan het licht. Ook het gewichtsverloop vertoont een merkwaardig beeld, dat wij in de tweede proefreeks zullen zien terugkeeren. Wij laten voor een gemakkelijk overzicht hieronder een tabel van den levensduur volgen:

Gewichtsverlies in de eerste week en Levensduur der Caviæ uit een Avitaminose proef.

I. Streng dieet + B. C. G.			II; Normale voeding + B. C. G.			III. Streng dieet zonder B. C. G.		
Cavia	levensduur	gewichtsverlies	Cavia	levensduur	gewichtsverlies	Cavia	levensduur	gewichtsverlies
A	10 dagen	100 gram	D	3 mnd.	—	A_1	23 dagen	40 gram
B	9 „	180 „	E	9 dagen	—	A_2	27 „	10 „
C	9 „	220 „	F	3 mnd.	—	A_3	21 „	30 „
						A_4	27 „	10 „

Het verschil in levensduur der caviae uit de eerste en uit de laatste kolom is opmerkelijk groot. Daarbij komt dat, zooals reeds gezegd, de afwijkingen door B.C.G. veroorzaakt niet van dien aard waren, dat wij een bijzondere virulentievermeerdering konden veronderstellen. Een sterke avitaminose was evenmin duidelijk aan te

GRAFIEK I.



Grafiek aangevende het gewichtsverloop per dag der caviae uit de Avitaminose-Proef.

Verklaring

—— B.C.G.-caviae.

----- Controle-caviae.

toonen. Men krijgt den indruk, dat de proefdieren kachectisch ten gronde gaan. Men ontkomt hier niet aan de gedachte, dat een inspuiting met B.C.G. bij het verzwakte dier een ongunstigen invloed heeft op den algemeenen weerstand. Het is alsof het lichaam, dat zijn krachten moet mobiliseeren, ter bestrijding van den vernietigenden invloed van het vitaminegebrek niet in staat is bovendien nog de levende bacillen of hun toxische producten te lijf gaan. Het organisme gaat in korten tijd ten gronde aan een algeheele uitputting.

Er is nog een factor, die ons in dit vermoeden sterkt. Dat is het gewichtsverlies. De caviae der eerste kolom hebben in de eerste week een verlies van 100 tot 220 gram, die der 3e kolom slechts 10—40 gram. Wanneer we de gewichtscurve eens van dag tot dag volgen, dan treedt hierbij nog een belangrijk verschijnsel aan het licht. Wanneer wij nevenstaande graphiek aandachtig beschouwen, dan valt allereerst het sterke gewichtsverlies der ingespoten dieren op. Wij zien een steeds sterk dalende lijn. Bij de onderste lijn zien we een rustperiode van eenige dagen, maar daarop volgt een sterke daling van het gewicht tot den exitus.

De niet ingespoten dieren vertoonen een geheel andere curve, niet alleen in het gewichtsverlies, maar ook in het verloop. Wij vinden hier dalingen en rijzingen. Hier geen noodlottige scherpe daling, als uiting van volkomen machteloosheid, maar een voortdurend zich verweren. Hier is een gezond organisme, dat veel langzamer ten offer valt aan het steeds toenemend vitamine gebrek. Deze eerste weken blijft als het ware deze strijd onbeslist; bij de ingespoten proefdieren is reeds vanaf den eersten dag geen sprake meer van strijd. De werking der inspuiting komt hier sterk tot uiting. Dat een dusdanig noodlottig verloop echter niet moet worden toegeschreven aan een specifieke werking, zal uit onze latere proeven blijken, waar wij als contrôle paardenserum inspoten en ook van deze inspuiting slechte gevolgen zagen. Wij zullen hierop bij de desbetreffende proeven nog uitvoeriger terugkomen.

Na deze betrekkelijk zeer grove proefneming hebben wij getracht door een minder streng régime onze onderzoekingen over een langer tijdperk te doen verloopen. Wij meenen hierin ten deele geslaagd te zijn door een vitamine-C-arm dieet.

Tweede Proefreeks. Vitamine-C-arm dieet.

De proefdieren dezer proefreeks werden twee aan twee in een kooi ondergebracht. Alle dieren werden op een dieet gezet, dat bestond uit haver en water. Per kooi werd 200 gram mangelwortelen per week gegeven. Dus 100 gram per week per proefdier. Wij gaven deze hoeveelheid al naar gelang wij meenden, dat de voedingstoestand dit noodig maakte, maar nooit meer dan totaal 100 gram per week per proefdier. Wanneer de voedingstoestand niet al te zeer te wenschen overliet, voedden wij zooveel mogelijk tweemaal per week met 50 gr. mangelwortelen. Bij dit rantsoen bleek, dat het gewicht langzaam achteruit ging of gelijk bleef, welke laatste toestand bij de jonge groeiende dieren, die wij gebruikten, gelijk stond met een licht gewichtsverlies. De contrôledieren kregen slechts 1/3 van de hoeveelheid mangelwortelen, die aan de met B.C.G. behandelden verstrekt werd.

Wij spoten achtereenvolgens intraperitoneaal in:

met 20 mgr. B.C.G.	5 caviae
met 10 mgr. B.C.G.	2 caviae.

Als controledieren gebruikten wij:

3 normale caviae
5 caviae, die intraperitoneaal ingespoten werden met 1 cc paardenserum.

Het inspuiten met paardenserum had ten doel na te gaan, of het inbrengen van een willekeurig soortvreemd eiwit onder slechte voedingsomstandigheden ook nadeelig werkte, met andere woorden, of de verschijnselen, die wij in de eerste proef waarnamen, aan B.C.G. moeten worden toegeschreven, of dat we hier te doen hebben met een algemeene, aspecifieke reactie.

Zoo min als in onze vorige proefreeks konden we hier verschijnselen van virulentievermeerdering constateeren. Er werden bij deze proefreeks geen overentingen verricht. Wanneer wij echter eens nevenstaande grafiek bekijken, waarin wij het gewichtsverlies per week voor de verschillende proefdieren hebben uitgezet, dan vallen hieruit merkwaardige feiten te constateeren.

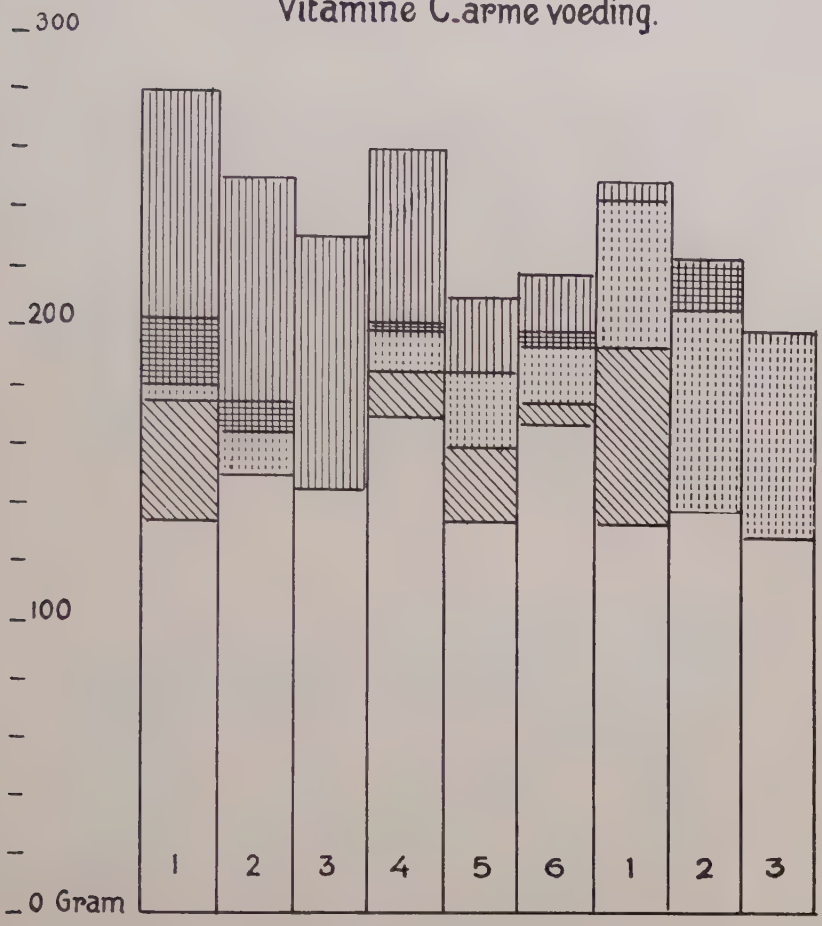
Allereerst valt op, dat de levensduur der verschillende proefdieren niet veel uiteenloopt. In de 4e week trad bij de meesten de dood in, bij enkelen reeds vroeger.

Gewichtsverloop.

der caviae gebruikt in een proef

met

Vitamine C.arme voeding.

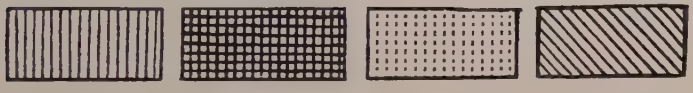


B. C. G. caviae Contrôle caviae.
(normaal)

Grafiek II

Verklaring gewichtsverlies:

1e week 2e week 3e week 4e week



In de eerste week vallen alle met B.C.G. ingespotenen zeer sterk af, één zelfs zoo sterk, dat aan het einde van de eerste week reeds de dood intrad. In de volgende week is er een gering gewichtsverlies. Steeds echter gaat het gewicht, met uitzondering van No. 5, in de 2e week omlaag. Bij de niet ingespoten controledieren zien we een ander verloop. In de eerste week is er geen of een uiterst gering gewichtsverlies. In de tweede week blijft het gewicht constant of schommelt slechts weinig. Dan in de 3e week een sterke daling, die meestal op het einde dier week tot den exitus voert. Wij zien dus evenals bij onze avitaminoseproef, dat de samenwerking der slechte voeding met B.C.G. onmiddellijk tot een ernstig verval lijdt. Het proefdier kan zich niet verweren. Soms treedt de exitus direct aan het einde der eerste week op (cavia 3), soms duurt het een paar weken voordat het dier kachectisch ten gronde gaat. Onze controledieren stellen zich meer te weer; pas in de 3e week treedt het sterke, tot den dood leidende, gewichtsverlies op.

Ook in klinisch opzicht is er verschil. Wij plaatsen hierachter twee foto's van proefdieren uit deze reeks. Beide foto's werden genomen in het midden van de 3e week, op hetzelfde tijdstip. A is een met B.C.G. ingespoten proefdier; B een niet ingespoten controle. Deze laatste maakt een gezonden indruk. De scorbuut heeft zich nog niet duidelijk geopenbaard. Daarentegen maakt A een zwaar zieken indruk. Borstelige opstaande haren, diep liggende kleine oogen. Het dier zit als een bal in elkaar en verplaatst zich haast niet. Het opvallend verschil is niet gezocht: alle met B.C.G. ingespoten dieren maakten een veel ziekeren indruk, hoewel de totale levensduur van beide groepen niet veel uiteenloopt.

Hoewel dus in deze proefreeks de proefdieren aanmerkelijk langer leefden, komt toch hetzelfde feit weer aan het daglicht, als in de eerste proefreeks. De levende bacil schijnt voor het slecht gevoede dier niet ongevaarlijk. Merkwaardig is echter, dat bij de snelverloopende gevallen, bij de sectie eigenlijk niets gevonden kon worden, wat den dood zou kunnen verklaren. Blijkbaar hebben wij hier te doen met een volkomen ineenstorting van alle verweerkrachten.

Men kan zich nu afvragen: Is dit ernstig verloop te wijten aan het feit, dat men levende, gering virulente bacillen inbrengt, of zal een willekeurig soortvreemd eiwit hetzelfde verloop veroorzaken? Om dit te onderzoeken hebben wij een drietal proefdieren,

Fig. VI.

A.

B.

A. met B.C.G. ingespoten proefdier.
B. niet ingespoten controle-dier.

intraperitoneaal ingespoten met ½ c.c. steriel paardenserum, en tegelijkertijd op vitamine-C-arme voeding gezet. Wij hebben het gewichtsverloop wederom in beeld gebracht in grafiek No. 3, vergeleken met dat der niet ingespoten contrôlecaviae.

Wat leert ons nu deze grafiek?

Wanneer wij het gewichtsverlies der met paardenserum ingespoten caviae in de eerste week vergelijken met de niet ingespoten controledieren, dan valt ons dadelijk weer hetzelfde verschil op, dat wij ook constateeren tusschen de met B.C.G. ingespoten proefdieren en de niet ingespoten controles. De ingespoten caviae hebben een veel grooter gewichtsverlies te boeken.

In de volgende weken blijft het gewicht steeds langzaam dalen. Er is dus blijkbaar een parallel te trekken tusschen de B.C.G. caviae en de paardenserum-caviae. Percentsgewijze blijkt er in de gewichtsverliezen der beide groepen geen bijzonder groot verschil te bestaan, zooals blijken moge uit onderstaande tabel.

Gewichtsverlies in de eerste week, uitgedrukt in % van het begingewicht.

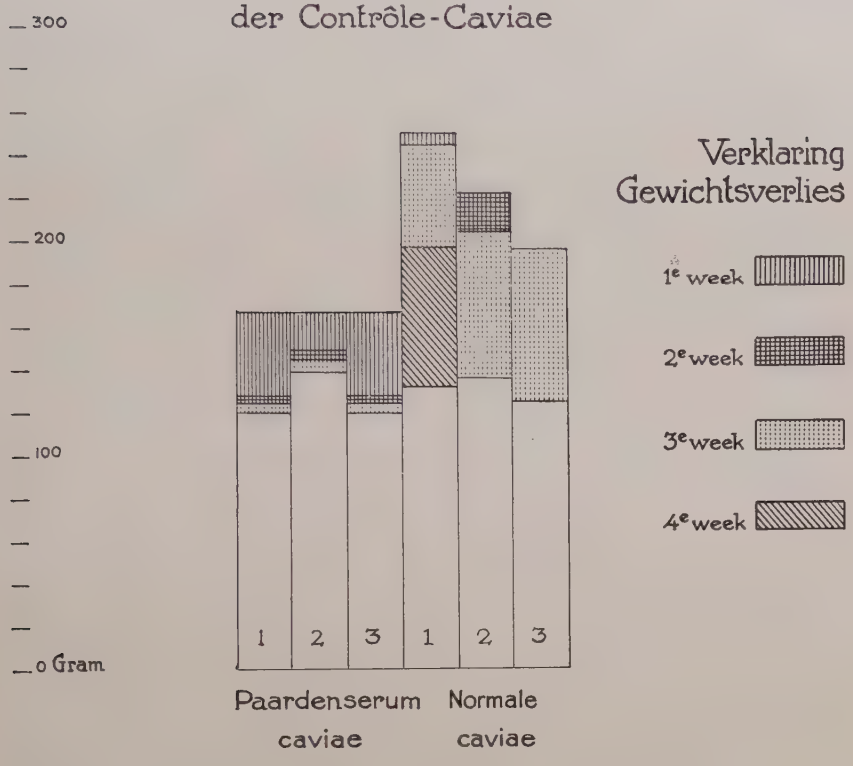
B.C.G.-caviae	Paardenserum-caviae
26.8	23.5
30	14.7
30.6	23.5
21	
11.9	
9	

Zooals we reeds opmerkten kunnen wij uit deze cijfers geen conclusie trekken, welk der beide stoffen, B.C.G. of paardenserum, schadelijker is, daarvoor zijn de proefreeksen te klein.

Wel blijkt, dat een inspuiting met een willekeurig soortvreemd eiwit voor onze slecht gevoede dieren steeds een ernstige ingreep is. De onschadelijkmaking van het vreemde eiwit eischt blijkbaar zooveel van het verzwakte lichaam, dat dit hiertegen niet is opgewassen en reeds dadelijk neemt het proces een slecht verloop. Of dit eiwit paardenserum is of levend eiwit in den vorm van bacillen, doet blijkbaar niet veel ter zake.Om dit nader te onderzoeken zouden uitgebreide proeven genomen moeten worden. Wij kunnen in verband

Grafiek III

Gewichtsverloop der Contrôle-Caviae



met het doel, dat wij ons gesteld hebben, hierop nu niet verder ingaan.

Wanneer wij nu na de bestudeering der beide laatste proefreeksen tot een conclusie willen komen, dan moeten wij onderscheid maken tusschen twee geheel op zichzelf staande feiten.

In de eerste plaats het virulentie vraagstuk. Er is geen enkel feit aan het licht gekomen, waardoor men tot een vermeerdering der virulentie zou kunnen besluiten. Geen der afwijkingen, die wij vonden, week af van die, welke wij bij onze overige proefdieren constateerden.

In de tweede plaats, de onschadelijkheid van de behandeling. Deze kunnen wij niet zonder meer erkennen. Uit onze proeven is gebleken, dat de behandeling bij slecht gevoede dieren geenszins ongevaarlijk is. Integendeel neemt het verloop reeds kort na de inenting een ongunstige wending. Uit de proeven met paardenserum blijkt, dat deze invloed ten ongunste waarschijnlijk geen specifieke eigenschap is, maar elk soortvreemd eiwit blijkbaar eigen is. In zooverre kan men dit dus niet beschouwen als een ongunstige werking van het vaccin op zichzelf, maar wel volgt hieruit voor de practijk een zeer belangrijke conclusie.

Immers er klinkt hier een ernstige waarschuwing, die CALMETTE zelf ook reeds heeft doen hooren, hoewel deze niet voortvloeide uit proefondervindelijk onderzoek in deze richting verricht. Hij beveelt n.l. aan, om de behandelde zuigelingen den eersten tijd na de ingestie van den bacil, zorgvuldig te beschermen tegen allerlei ongunstige invloeden, speciaal infecties. Met deze infecties bedoelt CALMETTE klaarblijkelijk slechts tuberculeuze infecties. M.a.w. hij waarschuwt voor een infectie met virulente tuberkelbacillen, vóórdat de B.C.G. zijn voorbehoedende kracht heeft kunnen ontplooien. Of CALMETTE ook banale infecties nadeelig acht, vermeldt hij niet. Men zal natuurlijk verstandig doen alle mogelijke infecties verre te houden, evenzeer als men zal streven naar een goede voeding van het behandelde individu, al is door onze proeven gebleken dat de invloed der voeding niet zóó groot is als men misschien zou gemeend hebben. Wij willen er op wijzen, dat de hoeveelheden B.C.G., die wij onze proefdieren gaven natuurlijk veel grooter waren dan die, welke men bij den mensch pleegt te geven. Trouwens op de vergelijkbaarheid

van het dier-experiment in dezen, met de toepassing van het middel op den mensch komen wij later nog terug. Uitzonderingen hebben wij niet gevonden, alleen in dien zin, dat de weerstand van sommige proefdieren blijkbaar door de slechte voeding zoozeer beschadigd was, dat ze reeds binnen een week na de enting stierven.

Verder hebben wij in een uitgebreide proefreeks trachten uit te maken of het mogelijk is ook langeren tijd na de inspuiting verschijnselen aan den dag te doen treden, die er op wijzen, dat de B.C.G. aan de afweerkrachten van het proefdier bijzondere eischen stelt.

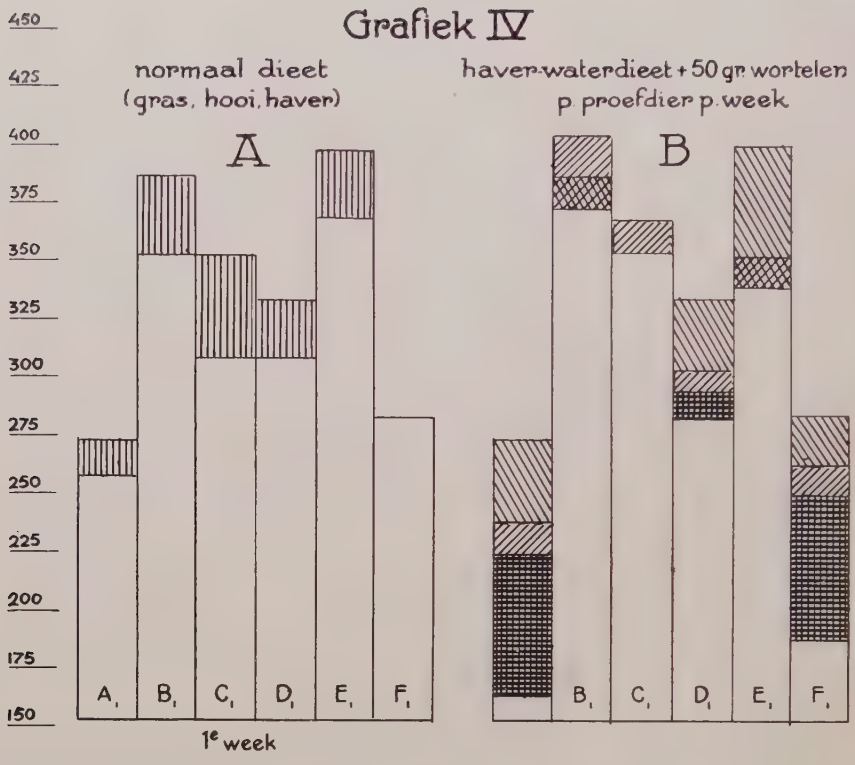
We hebben daartoe een reeks nog onvolwassen proefdieren (1 tot 2 maanden oud) intraperitoneaal ingespoten met 20 mgr. B.C.G. Een gedeelte dezer dieren kreeg gedurende een week na de inspuiting gewoon voedsel, haver, gras, wortelen. Daarna werden de dieren op een haver-water dieet gezet met als gedeeltelijke vitamine-C dekking 50 en 70 gram wortelen. De overige proefdieren kregen gedurende twee weken na de inspuiting gewoon voedsel en werden daarna op een zelfde vitamine-C-arm dieet gezet. Van te voren was in een contrôlereeks vastgesteld, dat normale caviae met 50 gram wortelen per week als vitamine-C dekking na drie à vier weken bij een haver-water dieet ten gronde gingen aan scorbuut. 100 Gram wortelen per week bleek voldoende te zijn, om de proefdieren in het leven te houden.

De bijvoeding met wortelen geschiedde in al onze proeven tweemaal per week. Per keer werd dus per proefdier 25, respectievelijk 35 gram wortelen verstrekt.

De indeeling onzer proeven moge hieronder ter nadere toelichting in een tabel worden uiteengezet.

GROEP I (12 Caviæ) krijgt gedurende één week na de inspuiting normaal voedsel, daarna haver-water diëet.		GROEP II (12 Caviæ) krijgt gedurende twee weken na de inspuiting normaal voedsel; daarna haver-water diëet.	
6 Proefdieren krijgen 50 gram wortelen per week als vitamine-C dekking.	**6 Proefdieren** krijgen 70 gram wortelen per week als vitamine-C dekking.	**6 Proefdieren** krijgen 50 gram wortelen per week als vitamine-C dekking.	**6 Proefdieren** krijgen 70 gram wortelen per week als vitamine-C dekking.

Grafiek IV


450
425
400
375
350
325
300
275
250
225
200
175
150
normaal dieet
(gras, hooi, haver)
A
haver-waterdieet + 50 gr. wortelen
p. proefdier p. week
B
A1
B1
C1
D1
E1
F1
B1
C1
D1
E1
F1
1e week

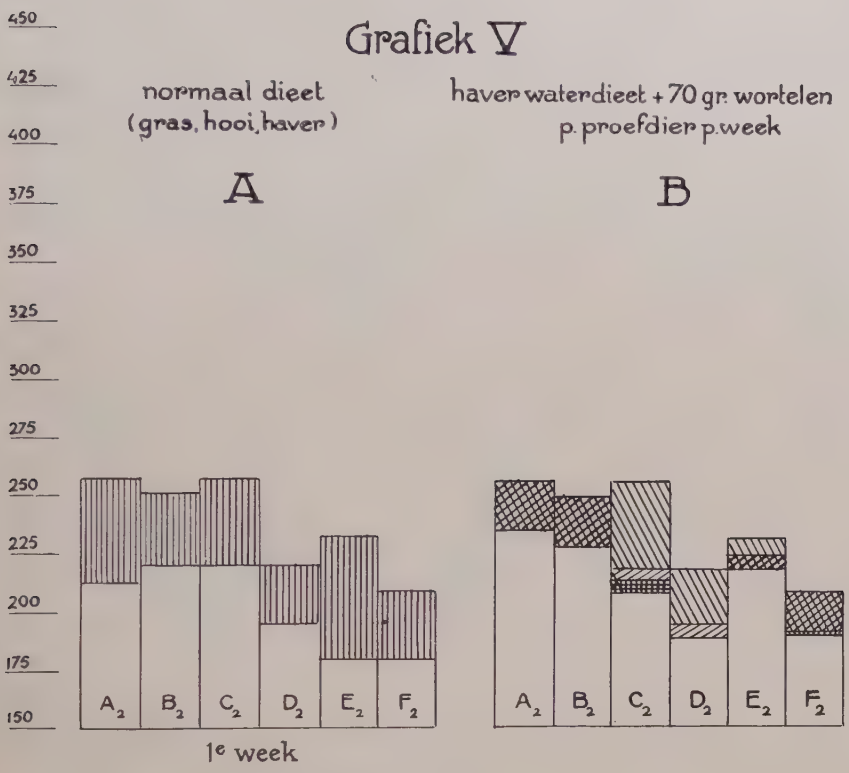
Grafiek V

normaal dieet
(gras, hooi, haver)

A

haver waterdieet + 70 gr. wortelen
p. proefdier p. week

B



1e week

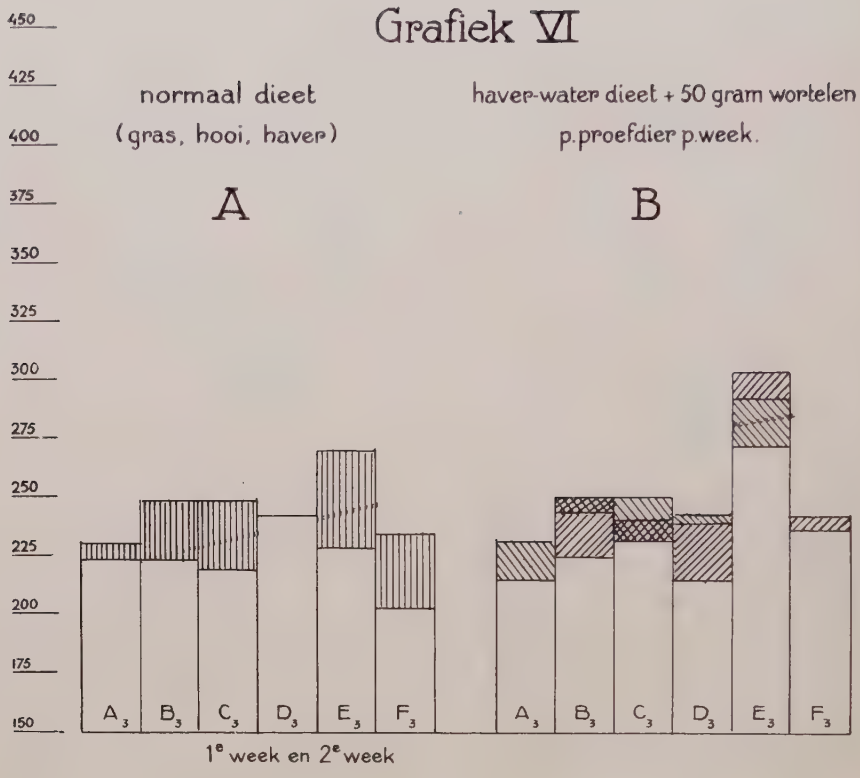
Gewichtsvermeerdering in de eerste week. I

Gewichtsverandering in de tweede week. II

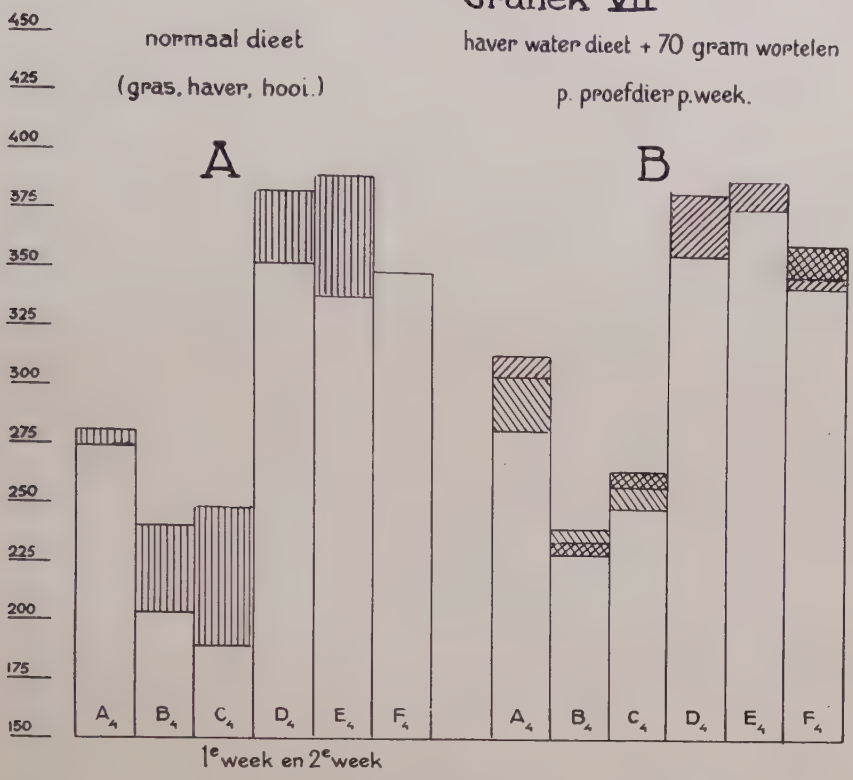
Gewichtsverandering in de derde week. III

Gewichtsverandering in de vierde week. IV

Grafiek VI


450
425
400
375
350
325
300
275
250
225
200
175
150
normaal dieet
(gras, hooi, haver)
haver-water dieet + 50 gram wortelen
p.proefdier p.week.
A
B
A3
B3
C3
D3
E3
F3
A3
B3
C3
D3
E3
F3
1e week en 2e week

Grafiek VII



Gewichtsvermeerdering in de eerste twee weken. I

Gewichtsverandering in de derde week. II

Gewichtsverandering in de vierde week.. III

Gewichtsverandering in de vijfde week. IV

Als contrôledieren werden voorts 6 caviae intraperitoneaal ingespoten met 50 mgr. B.C.G. en op normale voeding gezet.

Alle proefdieren werden gewogen bij het begin der proef en aan het einde der normale-voedsel-periode.

De resultaten dezer wegingen vindt men weergegeven in de groepen A. en B. der bijbehoorende grafieken IV-VII, waarbij in de witte blokken het begingewicht is aangegeven; de blokken I geven de eventueele gewichtsvermeerdering aan. Tijdens de haver-waterperiode werden alle proefdieren dagelijks gedurende drie weken gewogen. De resultaten dezer wegingen vindt men wederom neergelegd in de grafieken VIII-XI.

Zooals blijken zal, geven deze verschillende grafieken in hun onderling verband beschouwd, ons allerlei merkwaardigheden te zien. Ook een vergelijking met onze vorige carentie proeven zal blijken vruchtbaar te zijn.

Bekijken we eerst eens de grafieken IV en V. Na een flinke gewichtsvermeerdering in de eerste week na de inspuiting (groep A der grafieken), treedt in de 2e week, d.i. de eerste week der vitamine-C-arme voeding (groep B der grafieken, blokken II) bij de meeste proefdieren een daling van het lichaamsgewicht op. Alleen Caviae C1 vertoont geen gewichtsverandering.

Een belangrijk verschil tusschen de proefdieren, die 50 gram wortelen per week krijgen, en die welke 70 gram krijgen, is niet te constateeren. In percenten van het begingewicht bedraagt het gewichtsverlies van de proefdieren, die 50 gram wortelen kregen ten naaste bij:

voor cavia A1 12 %
B1 3 %
C1 0 %
D1 9 %
E1 14 %
F1 7 %
Gemiddeld dus 7.5 %.

Van de proefdieren, die 70 gram wortelen kregen, bedroeg dit verlies ten naaste bij:

voor cavia A2 7 %
B2 8 %
C2 13 %
D2 11 %
E2 4 %
F2 7 %

Gemiddeld dus 8.3 %.

Gezien het gering aantal proefdieren, waardoor de gemiddelden maar een betrekkelijke waarde hebben, kunnen wij uit de verschillen tusschen deze gemiddelden geen al te besliste conclusie trekken. Wel mogen we zeggen, dat ondanks 70 gram bijvoeding met wortelen, de proefdieren toch in gewicht afnamen.

Wat leeren ons nu de grafieken VI en VII?

Bij de met 50 gram wortelen bijgevoede dieren vinden we een gewichtsverlies bij 4 proefdieren. E3 is in gewicht toegenomen. F3 blijft op het begingewicht staan.

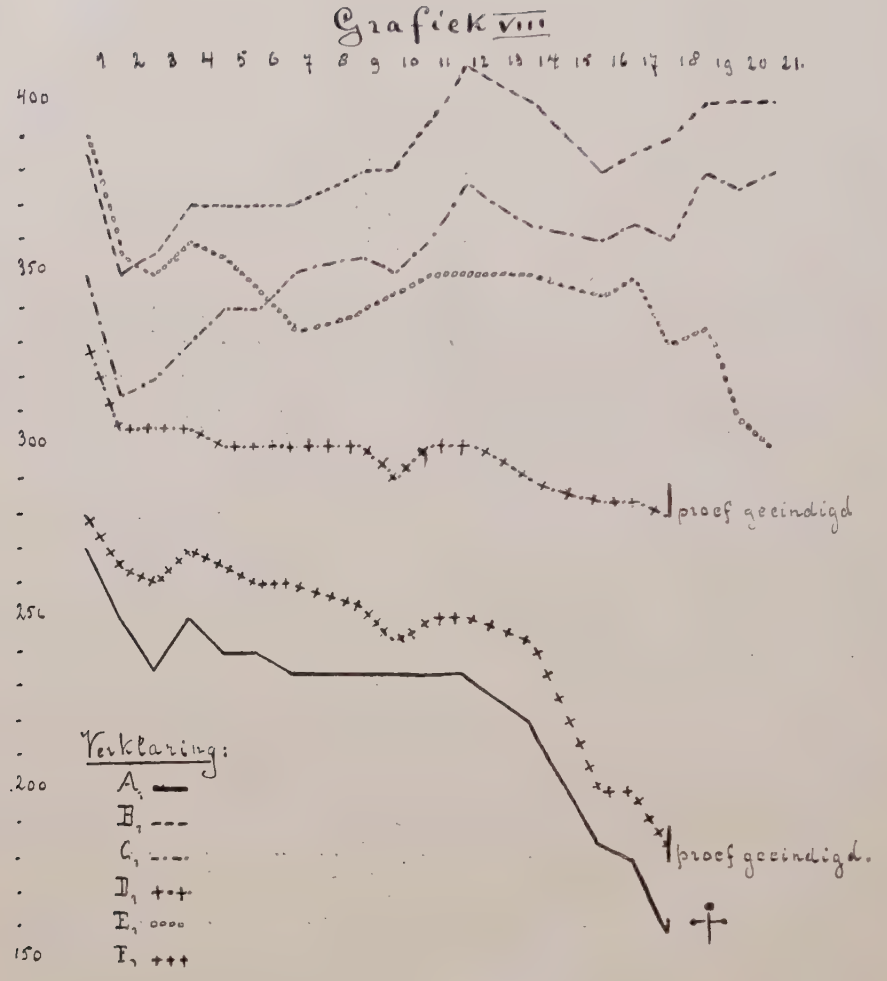
In percenten van het begingewicht uitgedrukt bedraagt het gewichtsverlies ten naaste bij:

voor cavia A3 6.5 %
B3 2 %
C3 8 %
D3 2 %
F3 0 %

Gemiddeld voor deze caviae 3.7 %, terwijl bij E3 het lichaamsgewicht met iets meer dan 9 % toenam.

Bij de proefdieren ,die met 70 gram wortelen werden bijgevoed, vonden wij bij een der dieren een gewichtsvermindering (B4). De overige dieren namen in gewicht toe, uitgezonderd D4 en E4, die op het begingewicht bleven staan. In percenten van het begingewicht krijgen we dus de volgende cijfers:

voor cavia A4 een gewichtsvermeerdering van ten naaste bij 8.9 %
„ „ B4 „ gewichtsvermindering „ „ „ „ 4.1 %
„ „ C4 „ gewichtsvermeerdering „ „ „ „ 6 %
„ „ D4 „ „ „ „ „ „ „ 0 %
„ „ E4 „ „ „ „ „ „ „ 0 %
„ „ F4 „ „ „ „ „ „ „ 4.2 %



Gewichtsverloop per dag. (cavia A_1-F_1).
Voedsel: haver en water + 50gr wortelen p.w.

Bij deze groep blijkt dus in tegenstelling met groep A2-F2 uit grafiek V een duidelijke invloed van een grootere hoeveelheid vitamine-C houdende bijvoeding.

Hoe kan men nu dit merkwaardig verschil in beide groepen verklaren?

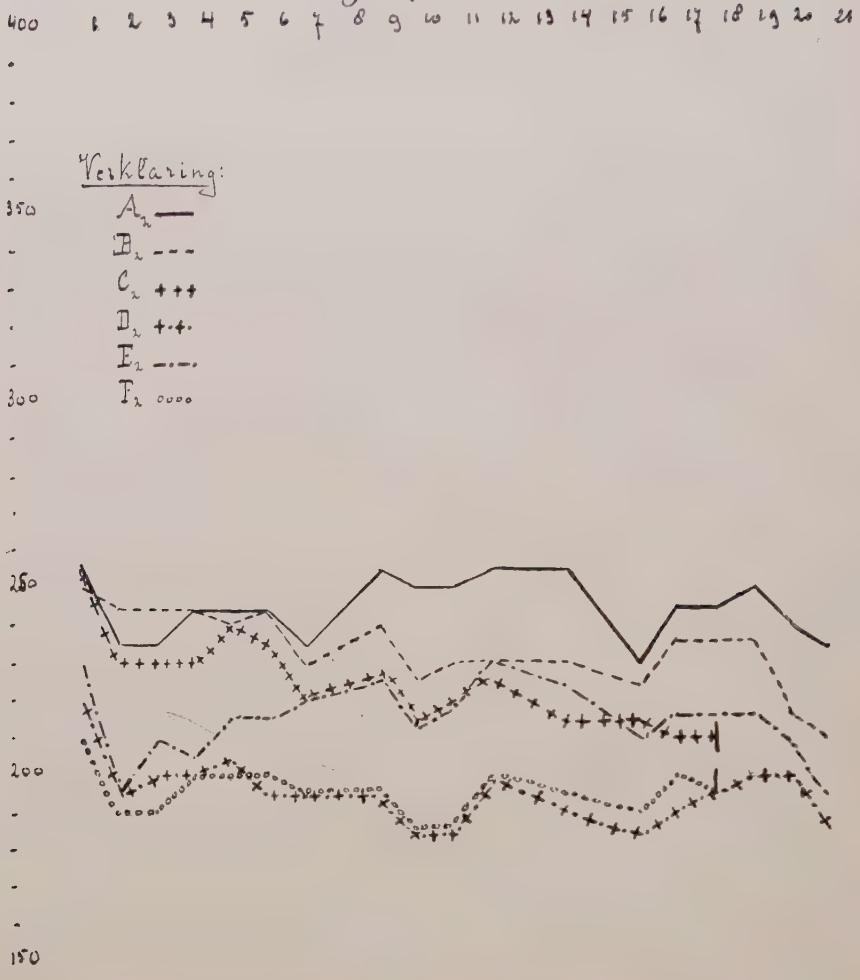
Alle proefdieren werden met eenzelfde dosis B.C.G. op dezelfde wijze, op hetzelfde oogenblik ingespoten, en onder volmaakt dezelfde omstandigheden op haver en water gezet. Het eenige onderscheid bestond hierin, dat groep I een week lang na de inspuiting gewoon voedsel kreeg. Groep II daarentegen kreeg twee weken lang normaal voedsel. Kan men nu hieruit de gevonden verschillen verklaren? Wij meenen van wel. Immers in onze vorige carentieproeven zagen we een sterken invloed van B.C.G. op onze proefdieren, wanneer wij ze direct na de inspuiting op vitamine-C arm dieet zetten. Welnu, in groep I werd den dieren één week gelegenheid gegeven zich te herstellen van den aanval, die door den levenden bacil op het organisme werd gedaan. Deze tijd was echter nog te kort voor de dieren, om zich geheel te herstellen. Ondanks een hoeveelheid van 70 gram wortelen treedt bij allen een sterk gewichtsverlies op. Geeft men echter een rust van twee weken aan de proefdieren, dan blijkt het organisme zich in zooverre hersteld te hebben, dat 70 gram wortelen voor de meeste dieren voldoende is, om het lichaamsgewicht constant te houden en zelfs iets te doen toenemen. 50 Gram wortelen blijkt voor de meesten ook nu nog te weinig te zijn, hetgeen uit onze voorproeven ook gebleken is. Na twee weken schijnt dus het lichaam ten opzichte van een inspuiting met B.C.G. zich zoo goed als geheel hersteld te hebben van de eerste directe gevolgen.

In de eerste week der vitamine-C-arme voeding treden echter nog andere belangrijke verschijnselen op. Bezien we daartoe eens de grafieken VIII tot X, waarop het dagelijksch gewichtsverloop staat aangegeven.

Uit grafiek VIII blijkt, dat de 50 grammers den eersten dag gewichtsverliezen hebben te noteeren van 20, 35, 35, 25, 35, 15 gram. De 70 grammers in grafiek IX verliezen respectievelijk 20, 5, 25, 25, 35, 20 gram.

In percenten van het begingewicht uitgedrukt krijgen we de navolgende cijfers:

Grafiek IX



Gewichtsverloop per dag (cavcae A_2-F_2).
Voedsel: haver en water + 70 gr. wortelen p.w.

voor de 50 gr. n.l.			voor de 70 gr. n.l.		
cavia	A1	7.4 %	cavia	A2	7.8 %
,, ,, ,,	B1	9 %	,, ,, ,,	B2	2 %
,, ,, ,,	C1	10 %	,, ,, ,,	C2	9.8 %
,, ,, ,,	D1	7.5 %	,, ,, ,,	D2	11.3 %
,, ,, ,,	E1	8.9. %	,, ,, ,,	E2	15.2 %
,, ,, ,,	F1	5.3 %	,, ,, ,,	F2	9.5 %
Gemiddeld		8 %	Gemiddeld		9.2 %

Met verwijzing naar wat wij boven reeds zeiden omtrent de waardeering der cijfers voor de gemiddelden, kunnen we hier wederom zeggen, dat een duidelijk verschil te vinden is tusschen de 50- en 70-grammers. Hoe staat het nu met de proefdieren uit groep II, die twee weken lang gewoon voedsel kregen na de inspuiting?

Wij vinden hier, onder verwijzing naar grafieken X en XI voor de 50 grammers:

cavia	A3	een	gewichtsverlies	van	20	gr.,	of	8	%	van het	begingew.
,,	B3	,,	,,	,,	10	,,	,,	4	%	,, ,,	,, ,,
,,	C3	,,	,,	,,	25	,,	,,	10	%	,, ,,	,, ,,
,,	D3	,,	,,	,,	20	,,	,,	8.1	%	,, ,,	,, ,,
,,	E3	,,	,,	,,	5	,,	,,	1.8	%	,, ,,	,, ,,
,,	F3	,,	,,	,,	10	,,	,,	4.2	%	,, ,,	,, ,,

Voor de 70 grammers vinden we de volgende cijfers:

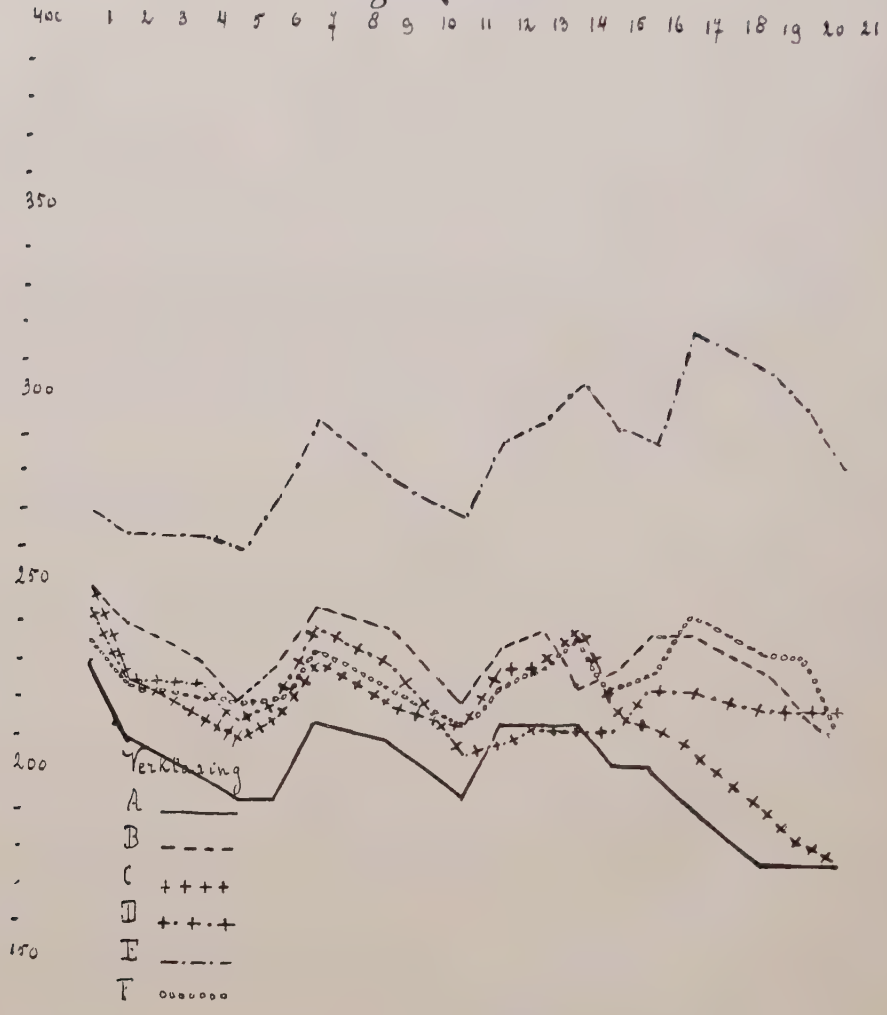
voor cavia	A4	een	gewichtsvermeerdering	van	5	gr.					
	B4	geen	,,		,,						
	C4	,,	,,		,,						
	D4	een	gew. verlies	van	15	gr.,	of	3.8	%	v. h.	begingew.
	E4	,,	,,	,,	5	,,	,,	1.2	%	,, ,,	,, ,,
	F4	,,	,,	,,	5	,,	,,	1.4	%	,, ,,	,, ,,

Uit deze tabellen blijkt dus wederom, dat na twee weken een duidelijk verschil aan den dag treedt, tusschen de met 50 gr. wortelen gevoede dieren en die, welke 70 gram wortelen per week kregen.

Wij komen hier dus wederom tot dezelfde conclusie als bij onze vorige beschouwingen over de gewichtsverhoudingen aan het einde der eerste week.

Wanneer wij nu eens teruggaan tot de eerste proeven van dit hoofdstuk, dan komen nog merkwaardiger verschijnselen aan het licht, zooals moge blijken uit onderstaande vergelijkingstabellen.

Grafiek X



Gewichtsverloop per dag (caviae A_3-F_3):
Voedsel: haver en water + 50 gr. wortelen p.w.

Gewichtsverlies in de eerste week der Vitamine C-arme Voeding uitgedrukt in percenten van het begingewicht.

I. Vitamine C-arm diëet ivangende op het tijdstip der inspuiting. (zie Grafiek II van dit hoofdstuk).	II. Vitamine C-arm diëet 1 week na de inspuiting		III. Vitamine C-arm diëet 2 weken na de inspuiting.		IV. Ingespoten met 50 mgr. B.C.G. introperitoneaal; normaal diëet.
	A	B	A	B	
	50 gram wortelen	70 gram wortelen	50 gram wortelen	70 gram wortelen	
26.8	7.4	7.8	8	7,1 % gew.tn.	5.1
30	9	2	4	0	0
30.6	10	9.8	10	0	3.3
21	7.5	11.3	8.1	3.9	8.7
11.9	8.9	15,2	1.8	1.28	5.3
9	5.3	9.5	4.2	1.4	3.2

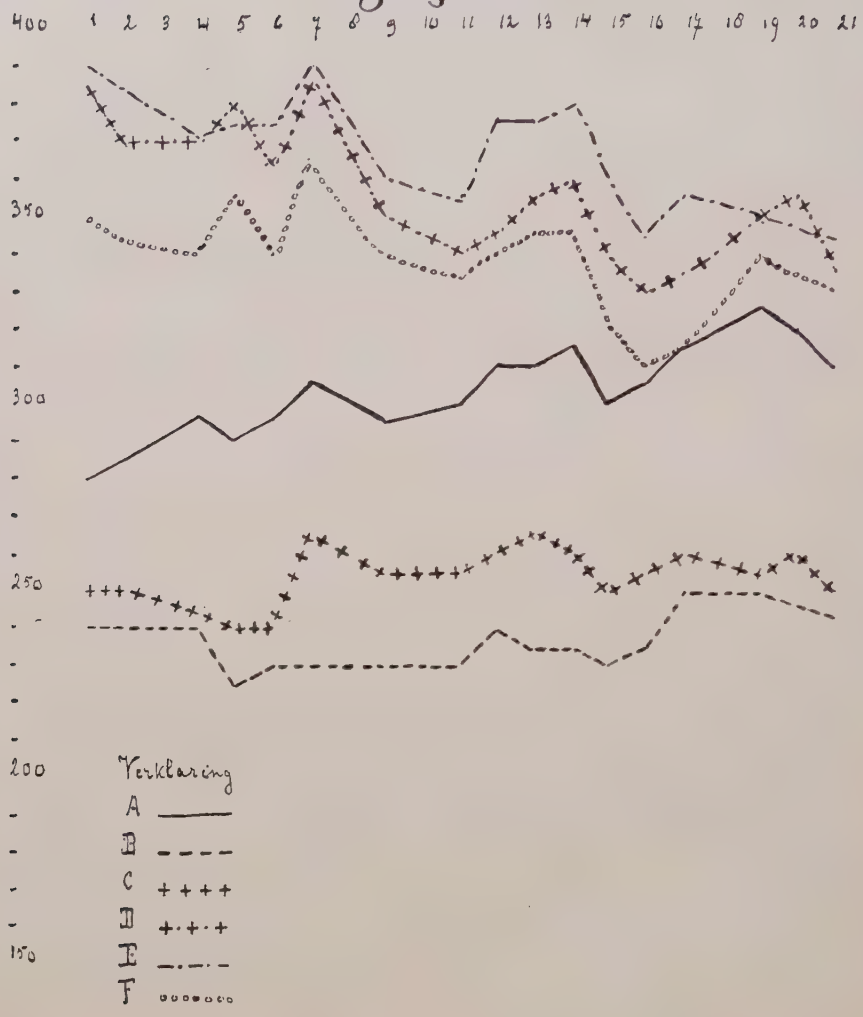
Onmiddellijk springt in het oog het veel grooter verlies in kolom I ten opzichte van de verliezen in de kolommen II, III en IV. Bovendien valt nog een merkwaardig feit te constateeren, wanneer we in de kolommen II en III de 50 grammers en de 70 grammers te zamen voegen. Er treedt dan vanaf de eerste kolom een steeds dalende grootte van het gewichtsverlies op. Hoewel wij ons steeds er van bewust zijn geweest, dat bij onze kleine reeksen gemiddelden uit den booze zijn, schijnt het ons toch toe, dat wij onder deze omstandigheden, waar we zulke zeer sterk sprekende cijfers vonden, ter vergemakkeling van het overzicht zonder gevaar deze gemiddelden mogen berekenen. Immers in kolom I vinden wij verliezen van 9 tot 30.6 % in kolom II verliezen van 2 tot 11.3 % en in kolom III vinden we als grootste verlies percentage 3.9, terwijl één proefdier een gewichtsvermeerdering van 7.1 % te noteeren heeft. In kolom IV bleek het grootste verlies 8.7 % te zijn.

De gemiddelden zullen dus, moge het dan ook al zeer grove approximatieve waarden zijn, ons waarschijnlijk toch geen zeer groote fouten doen maken.

Wij vinden dan als gemiddelden voor:

Kolom I	Kolom II	Kolom III	Kolom IV
21.5 %	8.6 %	3.8 % terwijl één proefdier 7.1 % in gewicht toenam.	4.2 %

Grafiek XI



Gewichtsverloop per dag (caviae A_H-F_H)
Voedsel: haver en water +70gr. wortelen p.w.

Wanneer wij nu onze resultaten samenvatten, dan vraagt men zich terstond af ,,: Vanwaar deze merkwaardige cijfers? Aan welken invloed is het toe te schrijven dat wij bij het steeds grooter maken van het tijdsverloop tusschen inspuiting en begin der vitamine-C-arme voeding, voortdurend minder gewichtsverlies constateeren in de eerste carentieweek?

Hiervoor is volgens onze meening maar één mogelijkheid, die zich onmiddellijk opdringt: de invloed van den B.C.G.

Uit onze proeven met paardenserum is gebleken, dat we hier zeker niet met specifieke reacties te doen hebben, maar wel blijkt hieruit, dat een inspuiting met B.C.G. niet volmaakt onschuldig is, en dat het organisme eenigen tijd noodig heeft, om zich te herstellen van aanvallen, die op zijn afweerkrachten gedaan zijn tengevolge van die inspuiting. Hieraan moeten wij echter onmiddellijk toevoegen, dat elke enting voor een verzwakt organisme natuurlijk een veel ernstiger ingreep beteekent dan voor een volmaakt gezond organisme.

Zoodra wij het organisme uit zijn normaal evenwicht brengen, blijkt wat een inspuiting met B.C.G. beteekent. Zonder dat wij hier aan een specifieke werking denken blijkt het toch wel, dat de ingreep niet te onderschatten eischen stelt aan de afweerkrachten van het organisme. Vooral wanneer men overgaat tot een algemeene toepassing, zal men aan de voeding van den zuigeling de allergrootste aandacht moeten schenken. Vooral in de eerste weken, welke direct op de ingestie volgen, is de allergrootste voorzichtigheid en oplettendheid geboden. Wij weten eigenlijk niets van den strijd, dien de zuigeling voert tegen den B.C.G. Dat een gezonde zuigeling klinisch volmaakt ,,normaal" blijft, zegt ons niets naders omtrent de eischen, die in dien ,,normalen toestand" aan het organisme worden gesteld. Toch is het in de praktijk wel gebleken, dat de gezonde zuigeling, althans in de eerste weken na de ingestie, in welken tijd van avitaminose wel geen sprake zal zijn, veilig is.

Wij willen tenslotte nog eens zien, of de tweede en volgende weken van het carentie-dieet ons nog nieuwe gezichtspunten kunnen openen.

Zooals uit onze allereerste proeven blijkt (grafiek II) plegen de contrôledieren in de tweede week belangrijk af te vallen, welk gewichtsverlies steeds toeneemt, tot de dood tenslotte intreedt onder algemeene scorbutische verschijnselen. Uit grafiek II blijkt, zooals wij

reeds besproken hebben, dat dit voor de B.C.G. caviae niet het geval is. Bij deze proefdieren constateert men het grootste gewichtsverlies in de eerste week. In de daarop volgende weken neemt het gewicht weliswaar steeds af, maar in geringere mate als dit het geval is bij de contrôledieren. Voor onze proefdieren, die een week na de inspuiting op dieet werden gezet, bleken de tweede en derde week vrij sterke verliezen te geven. Onder de 50 grammers waren er drie die na 17 dagen dood waren of zoo uiterst zwak, dat wij ze mede met het oog op nog verder te nemen proeven, weder op gewoon voedsel zetten. (Zie voor gewichtsverlies grafiek IV B.) De drie overige proefdieren gedroegen zich ongelijk. Twee bleven schommelen in gewicht en vielen in de 4e week sterk af. Eén vertoonde een zeer sterk gewichtsverlies in de 3e week. In de 4e en 5e week trad tenslotte bij allen onder toenemend gewichtsverlies de dood in.

Onder de 70 grammers waren er twee op den zeventienden dag eveneens uiterst zwak. (Zie voor gewichtsverlies grafiek V B.) Deze beide zetten wij op gewoon voedsel. De overige bleven in gewicht schommelen, maar begonnen op het einde der 3e week bedenkelijk in gewicht af te nemen en stierven in den loop der 4e en 5e week. Dit laatste was eveneens het geval met de 50 grammers, die twee weken na de inenting pas op dieet kwamen. De 70 grammers uit deze groep vertoonden echter geen neiging tot daling. In het begin van de 3e week trad een gewichtsverlies in, maar op het einde van die week namen de meeste dieren weer iets in gewicht toe. In het algemeen was deze laatste groep aan het einde der 3e week er het beste aan toe. Toch trad ook bij deze dieren voor het einde der 5e week was aangebroken de dood in.

De secties dezer dieren leverden ons hetzelfde beeld als bij de eerste carentie proeven. Er werden geen verschijnselen gevonden, die zouden kunnen wijzen op een virulenter worden van den B.C.G., evenmin werd een ernstige vorm van scorbuut gevonden. Ook hier dus weer een algemeene uitputting, die tenslotte bij het dier tot den dood voerde. Het viel ons in groep II op, dat bij de 70 grammers de scorbuutverschijnselen ernstiger waren dan bij alle andere proefdieren. Er waren meer bloedingen. Bij sommigen stonden de tanden geheel los. Van de proefdieren, die wij op gewoon voedsel zetten, teneinde na te gaan of er zich misschien nog verdere verschijn-

selen van den kant van den B.C.G. zouden openbaren, bleek geen enkel dier na twee maanden ook maar eenig spoor van ziekte te vertoonen. Wij hebben, teneinde onze proefreeks af te sluiten, deze dieren toen gedood en bij de sectie geen sporen van den B.C.G. meer gevonden.

Tenslotte nog een woord over de contrôledieren die gedurende den geheelen proeftijd gewoon voedsel kregen nadat zij intraperitoneaal waren ingespoten met 50 mgr. B.C.G. Zooals wij reeds gezien hebben, naderen de proefdieren uit kolom III, het meest tot deze contrôledieren, wat hun gewichtsverloop betreft.

Bij het gering aantal proefdieren dat wij gebruikten kan men uit een gemiddeld gewichtsverschil van 0.4 % geen vergaande conclusies trekken.

De gewichtsverliezen in beide groepen kan men wel als gelijk beschouwen. Daaruit blijkt dus dat twee weken na de inenting van een nadeelige werking van den B.C.G. toch eigenlijk niets meer valt te bespeuren. Na de eerste twee weken beïnvloedt een vitamine-C-arme voeding het proefdier niet meer in dien zin, dat deze aanleiding geeft tot een minder goed verdragen worden der bacillen.

HOOFDSTUK IV.

Waar onze carentieproeven belangrijke, zij het ook negatieve resultaten opleverden, hebben we ook nog getracht het organisme op een andere wijze te verzwakken dan door de voeding.

Wij hebben n.l. een aantal caviae bij hooge temperatuur (30° C.) gebracht, door deze dieren gedurende vele weken in een broedstof te houden. Wij gebruikten hiervoor broedstoven, die aan de voorzijde van glas waren voorzien, zoodat voldoende licht kon toetreden. Voor goede ventilatie werd zorg gedragen. De voeding bestond uit mangelwortelen en hooi.

We hebben groepen van 3 caviae in broedstoven gezet, nadat de proefdieren intraperitoneaal waren ingespoten met hoeveelheden van 25—30 mgr. B.C.G. Ook de overentingen dezer dieren werden in de broedstoof bij 30° gehouden. Tenslotte hebben wij een aantal caviae op zeer vochtigen bodem gezet, terwijl de proefdieren tevens in hun vrijheid van beweging sterk werden belemmerd, teneinde na te gaan, of deze schadelijke invloed ons dezelfde resultaten zou geven als carentie en hooge temperatuur.

Ook voor de practische toepassing der B.C.G. zijn deze vragen van belang. Immers de statistiek heeft geleerd, dat de hooge zomertemperatuur een niet te miskennen factor is bij de zuigelingensterfte. Vooral de huisvesting van den zuigeling in bedompte, slecht geventileerde vertrekken met aanhoudend hooge temperatuur in de warme zomermaanden is een niet te miskennen gevaar voor het jonge individu. Wij kennen sinds lang de beteekenis der volkshuisvesting voor de zuigelingensterfte. Inderdaad reeds lang weten wij, welke gevaren hier den zuigeling bedreigen, maar of er verband is, en zoo ja, welk, tusschen onze behandeling en deze ,,milieu-gevaren'', heeft men tot nog toe met betrekking tot den B.C.G. niet nader experimenteel onderzocht. En toch meenen wij, dat het van belang is, dat door het experiment aangetoond wordt, dat, wat wij op grond van practische ervaringen vermoeden, inderdaad juist blijkt te zijn.

Eerste proefreeks. Broedstoofproeven bij 30° C.

Drie caviae (A, B en C) werden intraperitoneaal ingespoten met 25 mgr. B.C.G. en in de broedstoof geplaatst. Twee normale caviae werden eveneens bij 30° in een andere broefstoof ondergebracht, en dienden als contrôle.

Met deze reeks waren wij al dadelijk zeer onfortuinlijk. Nadat de dieren 10 dagen in de broedstoof hadden gezeten, werden ze door een vergissing een dag bij kamertemperatuur gezet. Den volgenden dag waren de dieren dood. Secties, op deze dieren verricht, brachten geen bijzonderheden aan het licht: afgekapselde abscesjes in omento en speldeknop groote abscesjes op lever- en miltoppervlak met zuurvaste staafjes in de pus van alle abscesjes.

De pus dezer proefdieren werd intraperitoneaal ingespoten bij vijf andere caviae.

AB	subcutaan		ingespoten	met	pus	van	caviae	A en B.
B2	intraperitoneaal		,,	,,	,,	,,	cavia	B.
B3	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,	B.
B4	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,	B.
B5	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,	B.

AB, B2 en B3 werden in de broedstoof geplaatst, B4 en B5 bij kamertemperatuur.

AB leefde meer dan een maand. Bij sectie van dit spontaan gestorven dier bleek, dat de parenchymateuse organen van buik en borstholte volkomen normaal waren. Op de insteekplaats bevond zich een subcutaan, afgekapseld absces, dat naar binnen toe verbinding had met de buikholte. In de zeer sterk verontreinigde pus werden zuurvaste staafjes gevonden. De overige caviae in de broedstoof (B2 en B3) stierven ongeveer na hetzelfde tijdsverloop. De secties leverden geen bijzonderheden op. B4 en B5 leefden aanmerkelijk langer, n.l. respectievelijk 57 en 77 dagen. Er werden bij de sectie geen afwijkingen gevonden door B.C.G. veroorzaakt.

Resumeerende hebben wij dus bij deze proef geen verschijnselen gevonden die wijzen op een virulentietoeneming. Omtrent den levensduur der overentingen zullen wij bij de bespreking der tweede proefreeks nog iets naders zeggen.

Gaan wij nu eerst over tot de behandeling der

Tweede proefreeks. Broedstoofproeven bij 30° C.

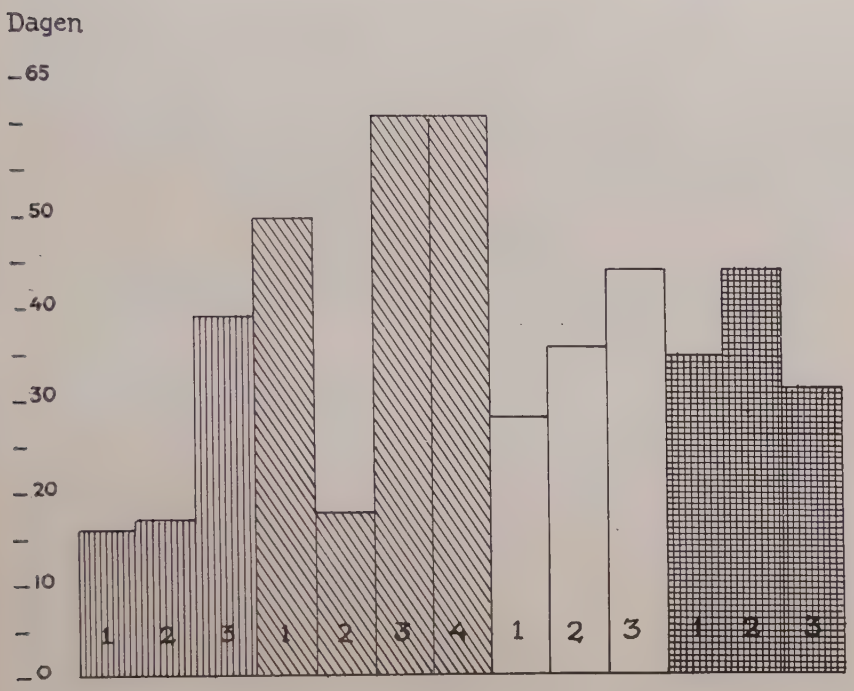
Bij deze proef werden drie caviae intraperitoneaal ingespoten met 30 mgr. B.C.G. Als contrôle op deze proef werden vier normale caviae in de broedstoof geplaatst. Bovendien werden nog drie caviae ingespoten met 1 c.c. paardenserum ter controleering van de werking van een willekeurig soortvreemd eiwit onder deze omstandigheden.

De drie ingespoten dieren leefden respectievelijk 38, 16 en 15 dagen. Er werden geen bijzondere afwijkingen gevonden bij de secties dezer dieren, behoudens eenige haardjes met pus in het omentum. Het gewichtsverloop der verschillende proefdieren vertoonde geen bijzonderheden. Alle dieren verminderden langzaam in gewicht. Eenig verschil in gewichtsverlies tusschen ingespoten en niet-ingespoten dieren konden wij niet constateeren.

De levensduur daarentegen bracht eenige bijzonderheden aan het licht, die wij de moeite waard achten hier te vermelden. Zooals uit achterstaande grafiek XII blijkt, valt allereerst een verschil te constateeren tusschen de met B.C.G. ingespoten proefdieren, en de normale caviae. Behalve cavia 2 der normale contrôlecaviae, die aan een pneumonie stierf, (van niet tuberculeuzen aard), valt op, dat deze contrôledieren over het algemeen aanmerkelijk langer leefden dan de ingespoten B.C.G. caviae. De vraag doet zich nu voor, vanwaar die verminderde weerstand? Waarom is de warmte voor deze met B.C.G. behandelde caviae funest? Zooals wij reeds opmerkten vonden wij bij de sectie geen afwijkingen, die ons ook maar eenigermate zouden kunnen doen veronderstellen, dat de dood door B.C.G. werd veroorzaakt. Om nu uit te maken, of de verzwakkende werking van den B.C.G. specifiek is, hebben wij eveneens normale contrôle-caviae ingespoten met paardenserum, in de broedstoof gebracht. Hierbij bleek ons, dat van een specifieke werking niet gesproken kan worden. Zooals uit grafiek XII blijkt, verdroegen ook deze dieren de warmte veel slechter dan hun normale niet ingespoten lotgenooten. Ook de overentingen der B.C.G. caviae bleken de warmte slechter te verdragen dan niet ingespoten proefdieren, hoewel zij over het algemeen iets langer leefden, dan de oorspronkelijk met B.C.G. ingespoten dieren. Waar wij echter bij de secties van deze dieren geen afwijkingen vonden, veroorzaakt door B.C.G., zeggen deze feiten maar betrekkelijk weinig.

Grafiek XII

Levensduur der caviae gebruikt in de broedstoof-proeven.



De 3 caviae uit de eerste proefreeks zijn niet in de grafiek opgenomen, wèl de overentingen.

Wij vinden hier dus feiten, die sterk doen denken aan wat wij bij onze carentieproeven vonden: *geen specifieke werking, maar een groote gevoeligheid voor schadelijke prikkels.*

Het blijkt dus uit beide proefreeksen, dat zoowel de voeding als de temperatuur van invloed zijn op het weerstandsvermogen. Zooals wij bij onze carentieproeven opmerkten, dat men bij de behandeling met B.C.G. groote aandacht heeft te schenken aan de goede voeding van den zuigeling, zoo zouden wij hier willen wijzen op het belang der excessief hooge temperaturen. Wij denken daarbij in de eerste plaats aan de zomerwarmte in de volksbuurten der groote steden. Daar vinden wij het materiaal voor de behandeling met B.C.G., daar vindt men in den zomer onder slechte hygiënische omstandigheden, de benauwde, slecht geventileerde vertrekken, waar de warmte haar werking op den zuigeling het sterkst kan doen gelden.

Proeven op natten bodem.

Behalve voeding en temperatuur zijn ook vochtigheid en sterke afkoeling niet te miskennen factoren, die van invloed zijn op de gezondheid van den zuigeling.

Zijn deze beide factoren ook van beteekenis bij de behandeling van den zuigeling met B.C.G.? Ook dit vraagstuk hebben wij onder de oogen gezien en getracht hierin eenig inzicht te verkrijgen.

Wij richtten onze proeven die wij hiertoe namen zóó in, dat elke cavia in een aparte kooi werd gehouden. Deze kooi bestond uit een lagen steenen inmaakpot, waarvan de bodem bedekt werd met een dikke laag zand, die voortdurend zeer vochtig werd gehouden. De potten werden afgedekt met zeer wijdmazig gaas, op den grond gezet van de dierenloods, waar langs den grond een sterke trek was. De vrijheid van beweging was beperkt. Het voedsel bestond uit gras en mangelwortelen.

Allereerst werden nu 3 caviae intraperitoneaal, ingespoten met 25 mgr. B.C.G. Een normale cavia werd als contrôledier gebruikt. Reeds den volgenden dag was een proefdier gestorven tengevolge van verbloeding, zooals bij de sectie bleek. De twee overige stierven 8 en 12 dagen na de inenting. Het proefdier, dat na 8 dagen stierf, had uitgebreide afwijkingen. Pus op de insteekplaats, subcutaan zoowel als op het peritoneum parietale. In het sterk verdikte omentum bevond zich veel pus. Er waren verklevingen der darmlissen en op

lever- en miltoppervlak waren speldeknop groote haardjes aanwezig. Het parenchym der organen was niet aangedaan. De thoraxorganen vertoonden geen afwijkingen. Er was geen algemeene lymphklierzwelling, alleen in de rechter lies bevond zich een licht gezwollen klier. Wij hebben met de pus uit het omentum intraperitoneaal een cavia ingespoten. Na drie maanden werd het proefdier gedood, zonder dat eenigerlei afwijking gevonden werd. Het contrôle-dier leefde 14 dagen. Bij de sectie werden geen afwijkingen gevonden die den dood verklaarden. Het dier was sterk vermagerd.

In een tweede proefreeks werden 3 caviae intraperitoneaal ingespoten met 20 mgr. B.C.G. Deze dieren werden, evenals twee normale caviae, als contrôles, eveneens op natten bodem gezet. De ingespoten caviae stierven respectievelijk 12, 12 en 19 dagen na de inenting. De contrôle caviae leefden 13 en 20 dagen. Geen der dieren had tijdens het leven eenigerlei afwijking vertoond. Bij de sectie vonden we geen bijzonder sterke afwijkingen. Het omentum bevatte steeds meer of minder veel pus. Op de insteekplaats had zich een afgekapseld absces gevormd. Het lymphklierapparaat was bij allen sterk gezwollen. Bij een der proefdieren waren speciaal de mesenteriaalklieren zeer sterk gezwollen.

Wanneer men beide reeksen eens tezamen beziet, dan valt allereerst weer op, dat van een virulentievermeerdering niets te bespeuren valt. Wel waren de afwijkingen bij een der proefdieren sterker dan men ze gewoonlijk aantreft, maar ook hier bleven de afwijkingen beperkt tot de buikholte.

Dat de natte bodem en de vochtige omgeving een zeer funesten invloed hebben gehad, blijkt overtuigend uit het enorme gewichtsverlies, dat alle dieren vertoonden. De secties gaven steeds een zeer sterke kachexie te zien, die ongetwijfeld voor de dieren noodlottig geweest moet zijn. De ongunstige invloed van vocht en tocht blijkt ook wel duidelijk uit den levensduur. Geen der caviae leefde langer dan 3 weken.

Wij laten hieronder een tabel volgen, die den levensduur der verschillende proefdieren aangeeft.

LEVENSDUUR.

Cavia	hoeveelheid B.C.G.	levensduur
	1e Reeks.	
A	25 mgr.	1 dag
B	25 mgr.	12 dagen
C	25 mgr.	8 dagen
	2e Reeks.	
D	20 mgr.	12 dagen
E	20 mgr.	12 dagen
F	20 mgr.	19 dagen
	CONTROLE-DIEREN.	
1	—	13 dagen
2	—	20 dagen
3	—	8 dagen

Uit deze tabel blijkt geen opvallend verschil tusschen proefdieren en contrôle-dieren aanwezig te zijn. Beide groepen worden in gelijke mate beïnvloed door de blijkbaar zeer ongunstige levensomstandigheden.

Wanneer wij nu tenslotte nog eens een blik werpen op de resultaten, die wij in de tweede helft van ons proefschrift hebben verkregen (Hoofdstukken III en IV), dan is de meest opvallende bijzonderheid wel deze, dat ondanks het feit dat geen der proefdieren stierf aan een gegeneraliseerde tuberculose, m.a.w. dat van een virulentie-terugkeer niets kon worden aangetoond, toch in een groot aantal der proeven duidelijk naar voren is gekomen, dat een inspuiting met B.C.G., evenals trouwens met normaal paardenserum, door ondervoede, respectievelijk slecht gevoede proefdieren niet zonder schade wordt verdragen. Vooral wanneer, zooals bij onze tweede carentieproef, de algemeene toestand niet al te slecht is, komt dit duidelijker naar voren. Bij zeer sterk werkende schadelijke invloeden, zooals bij de natte bodem proeven blijkt dit niet. Wij meenen dit hieraan te moeten toeschrijven, dat de algeheele uitputting al te snel optreedt en tot den dood leidt. Er is geen voldoende tijd om eenig verschil tusschen ingespotenen en contrôles aan den dag te doen treden. Wij mogen dus niet besluiten tot het aannemen van een gevaarlijke werking van den B.C.G. Bij al onze proeven blijkt ten duidelijkste, vooral door de

paardenserum-contrôles, dat er nergens sprake is van een specifiek schadelijke werking. De B.C.G. is voor een in slechte omstandigheden verkeerend organisme niet schadelijker dan een willekeurig soort vreemd eiwit dat men onder deze omstandigheden toedient.

SLOTBESCHOUWINGEN.

Wat hebben onze proeven nu geleerd? Welke theoretische en practische gevolgtrekkingen kan men maken uit de verschillende proefreeksen?

Een virulentieterugkeer hebben wij niet kunnen waarnemen. Ondanks de sterke afwijkingen, die wij bij sommige onzer proefdieren hebben waargenomen, is het nooit gelukt door dierpassages aan te toonen, dat deze verhoogde reactie in den zin van sterk uitgebreide, maar scherp gelocaliseerde processen, toegeschreven moet worden aan een verhooging, d.i. terugkeer der klinische virulentie, van het nosogeen vermogen.

Dat de B.C.G. in pathologisch-anatomischen zin een zekere virulentie bezit, tuberculigeen is, kunnen wij bevestigen. Wij vonden bij onze proeven specifieke tuberculeuze afwijkingen, epithelioide cellen, reuzencellen, tuberkels. Hoewel de structuur der tuberkels er op wijst, dat het lichaam in staat is den bacil te overwinnen en in zijn verdere ontwikkeling te stuiten, blijken deze afwijkingen toch typisch specifiek te zijn. Een geringe mate van virulentie bezit de bacil dus in dien zin, dat door den levenden bacil locaal schadelijk werkende stoffen worden geproduceerd, die aanleiding geven tot typische, regelmatig weerkeerende afwijkingen. Het proefdier, dat klinisch geheel gezond blijft, bewijst wel duidelijk de afwezigheid van klinische virulentie. Zelfs bij zeer groote hoeveelheden, die enorme afwijkingen in den buik veroorzaken, blijven de proefdieren volkomen gezond.

Het vraagstuk der voeding bij het toedienen van het vaccin is gebleken belangrijk te zijn. Wij meenen, dat door onze carentieproeven tweeërlei feiten aan het licht zijn gekomen. Primo, dat de B.C.G., gebracht in een slecht gevoed organisme, dat dus over geringe afweerkrachten zal beschikken, geen specifieke klinische virulentie schijnt te ontplooien. Secundo,, dat een inspuiting met B.C.G. in een slecht gevoed organisme geen pathologisch-anatomische veranderingen ver-

oorzaakt, die wijzen op een verhooging der virulentie in pathologisch-anatomischen zin.

Over het algemeen komt het bij onze carentiedieren niet tot een sterke verbreiding van den bacil door de buikholte. Integendeel, het is alsof het lichaam te gronde gaat aan de combinatie der avitaminose en de inspuiting. De B.C.G. heeft als het ware geen tijd om aan te slaan.

Bij andere, het geheele organisme verzwakkende invloeden, komen deze feiten eveneens naar voren, zij het ook niet zoo duidelijk als bij slechte voeding.

Welke consequenties hebben de uitslagen onzer proeven nu voor de toepassing van het vaccin in de praktijk?

Waar het blijkt, dat de bacil een geringe virulentie toch wel schijnt te bezitten, n.l. in pathologisch-anatomisch opzicht, waar men niet weet of onder zekere omstandigheden niet een vermeerdering der virulentie te wachten staat, hoewel door geen der onderzoekers een terugkeer is bewezen kunnen worden en dit ook zeker niet waarschijnlijk geacht kan worden, is toch een scherpe contrôle bij de toediening van dit middel een vereischte. Dit laatste klemt te meer, daar wij bij onze carentieproeven toch wel een verschil zien tusschen serum- en B.C.G.-dieren in dien zin, dat wel beide ingrepen een nadeeligen invloed hebben, maar toch blijkens de gewichtsverliezen de B.C.G. wel meer schade toebrengt dan paardenserum, hetgeen ons echter niet al te zeer behoeft te verwonderen, daar wij met een levend organisme te doen hebben, omtrent welks stofwisselingsproducten wij slechts weinig weten.

Tot een algemeene toepassing van het middel in de praktijk is men ons inziens nog niet gerechtigd. Bij onze carentieproeven is bovendien gebleken, dat in het algemeen schadelijk werkende invloeden, b.v. paardenserum, welke van niet specifieken aard zyn, op dit ondervoede organisme eveneens een ongunstigen invloed hebben. Daar over het vraagstuk der slechte voeding en B.C.G. nog zeer weinig proeven zijn genomen, lijkt het ons belangrijk, alvorens het middel op groote schaal te gaan toepassen eerst meerdere proeven in die richting te nemen.

Ook de invloed van andere infecties, wij denken hierbij b.v. aan congenitale syphilis, is nog veel te weinig bestudeerd.

Samenvattend kunnen wij dus zeggen: in onze kennis omtrent den

B.C.G. zijn nog talrijke leemten, wij kunnen de draagwijdte van onze handelingen nog niet volkomen omvatten. Het „primum non nocere" is in deze materie op den achtergrond geraakt. Daarvoor in de plaats is gekomen het gevaarlijke: „aux grands maux de grandes remèdes"! En waar wij reeds bij onze broedstoofproeven er op gewezen hebben, dat in de praktijk men het middel juist zal toepassen in de maatschappelijk slechtst bedeelde kringen, klemmen deze overwegingen nog des te meer.

Wij hebben maar weinig aandacht geschonken aan de prophylactische waarde van het B.C.G.-vaccin. En wel om twee redenen: Eerstens zal men pas na vele jaren in staat zijn door uiterst zorgvuldig bijgehouden en uitgebreide statistieken zich een oordeel over de werking van den B.C.G. te vormen. In de tweede plaats hebben wij gemeend, dat het vóór alles noodig is, dat men een juist inzicht heeft in de werking van het middel, dat men zijn gevaren en schadelijke gevolgen kent, alvorens het als algemeen prophylacticum bij den mensch te gaan toepassen.

Wij zijn van meening, dat in het algemeen de behandeling met verzwakte tuberkelbacillen een toekomst, misschien wel een groote toekomst heeft, maar wij moeten ons verzetten tegen de onwetenschappelijke en niet zuiver objectieve wijze van onderzoek, waarmede men de onschadelijkheid en doelmatigheid van den B.C.G. naar voren wil brengen. Indien men de gevaren, die mogelijkerwijs aan de toediening van het vaccin verbonden zijn, niet onder de oogen wil zien, niet door uitgebreide dierexperimenten tracht nader te onderzoeken, dan loopt men gevaar op een gegeven oogenblik voor onaangename en pijnlijke verrassingen te komen te staan, die het vertrouwen in dit middel ernstig zouden kunnen schaden. Wanneer wij nog eens terugblikken op de gezamenlijke proeven door ons genomen, dan meenen wij, mede op grond van de tallooze in de litteratuur vermelde proeven op allerlei proefdieren, wel te mogen concludeeren, dat in deze materie tenslotte het proefdier niet het laatste woord zal kunnen spreken. Daarvoor is het verschil in gevoeligheid voor een infectie met den tuberkelbacil bij mensch en dier in casu de cavia al te groot. Slechts de statistiek zal ons hierin uitkomst kunnen geven. Maar dan zal deze den toets der critiek volkomen moeten kunnen doorstaan. Daarom is een eerste vereischte, dat men slechts vergelijkbare grootheden bezigt en bovenal, dat men

een zoo groot mogelijk aantal contrôles heeft naast de behandelde kinderen, levende in hetzelfde milieu onder dezelfde omstandigheden. Eerst dan zal na een reeks van jaren zulk een statistiek, onder scherpe contrôle bijgehouden, een inzicht kunnen geven in de voorbehoedende waarde van het middel. In ons land is reeds door samenwerking van het Rijks Serologisch Instituut met de districts consultatiebureaux voor tuberculose voor een dergelijke betrouwbare statistiek de grondslag gelegd.

CONCLUSIES.

Bij onze onderzoekingen omtrent de virulentie van den B.C.G. en een eventueelen terugkeer der verloren gegane oorspronkelijke virulentie, zijn wij tot de volgende conclusies gekomen:

De B.C.G. bezit een geringe virulentie, die regelmatig terugkeerende, typische pathologisch-anatomische veranderingen veroorzaakt; hij is tuberculigeen.

Bij de gevormde tuberkels is typisch een kleincellig infiltraat, een sterke neiging tot bindweefselvorming en andere progressieve veranderingen, welke wijzen op de sterke verzwakking der oorspronkelijke virulentie. Hoewel wij bij sommige proefdieren vele maanden na de inenting nog zeer sterke afwijkingen vonden, is geen bewijs voor generaliseering gevonden kunnen worden.

Deze proeven wijzen er op, dat de B.C.G. een normaal, gezond proefdier geen blijvende schade berokkent, in het bijzonder geen klinische tuberculeuze verschijnselen veroorzaakt, dus anosogeen is.

De door ons genomen carentieproeven, waarbij de proefdieren een dieet kregen met een te geringe hoeveelheid vitamine-C, hebben aangetoond, dat de B.C.G. zelfs in een dusdanig algemeen verzwakt organisme geen klinische tuberculose kan veroorzaken.

Specifieke werking van den B.C.G. hebben we juist bij deze dieren het minst kunnen constateeren, maar aan de afweerkrachten van het organisme worden blijkbaar door de combinatie B.C.G. en tegelijkertijd stellen op vitamine-arm dieet hooge eischen gesteld: dit uit zich het duidelijkst in een zeer sterke gewichtsafneming. Eenzelfde verschijnsel doet zich echter voor bij de combinatie paardenserum en vitamine-arme voeding.

Nader onderzoek omtrent den invloed van de voeding op enting met B.C.G. is nog zeer gewenscht.

Ook andere nadeelige prikkels, als hooge temperaturen, worden door met B.C.G. behandelde proefdieren minder goed verdragen dan door normale.

Voor een algemeene toepassing is daarom ons inziens voor dit middel de tijd nog niet gekomen. Vooralsnog zal men zich moeten beperken tot een individueele behandeling, onder het strengst mogelijke toezicht, waarbij, niet alleen het gevaar voor tuberculeuze infectie direct na de enting onder de oogen moet worden gezien, maar ook aan den voedingstoestand de meest mogelijke aandacht moet worden besteed.

Toch zal de toepassing op den mensch ons tenslotte het laatste antwoord moeten geven. Maar juist daarom betrachte men bij de aanwending van den B.C.G. de allergrootste voorzichtigheid. Een individueele behandeling zal vooralsnog de aangewezene blijven. Primo om de zoo gevreesde vroegtijdige infecties met t.b.c. en voedingsstoornissen zoo goed mogelijk te kunnen uitschakelen, secundo ten einde de voor de betrouwbare statistiek geschikte gevallen zoo zorgvuldig mogelijk te kunnen uitzoeken, d.w.z. die gevallen, waartegenover men een aantal zuivere contrôles kan stellen.

De daartoe in ons land gevolgde methode schijnt ons de juiste, n.l., dat men via de consultatiebureaux voor tuberculose die zuigelingen uitzoekt, waarbij men volkomen op de hoogte is, niet alleen van hun maatschappelijk milieu, maar ook van de infectiemogelijkheden in de naaste omgeving der zuigelingen, m.a.w. of vader, moeder, broeders of zusters tuberculeus zijn en in welke mate en hoe het contact dezer huisgenooten met den behandelden zuigeling is. Tevens heeft men op deze wijze de gelegenheid uit dit zelfde milieu de contrôles te zoeken en deze regelmatig evenals den zuigeling op het consultatiebureau te onderzoeken (gedurende minstens 3 jaar). Op deze wijze slechts zal het mogelijk zijn na een reeks van jaren met eenige mate van zekerheid een uitspraak te doen omtrent de onschadelijkheid en de voorbehoedende werking van den B.C.G. bij den mensch.

N.B. Ten gerieve van buitenlandsche onderzoekers laten we een Fransche vertaling der conclusies hierachter volgen.

CONCLUSIONS.

Au cours de nos recherches concernant la virulence du B.C.G. et d'une réapparition de sa virulence primitive, nous sommes arrivés aux conclusions suivantes:

Le B.C.G. n'a qu'une faible virulence déterminant régulièrement des modifications anatomo-pathologiques d'un type donné. Il est tuberculigène.

Les tubercules, caractérisés par des néo-formations à petites cellules, une tendance très nette à retourner au type conjonctif et à d'autres modifications progressives, prouvent un affaiblissement marqué de la virulence primitive du B.C.G.

Quoique nous ayons constaté chez certains animaux d'expérience, plusieurs mois après l'inoculation, des modifications considérables, nous n'avons néanmoins pas pu trouver les indices d'une généralisation du processus.

Ces expériences montrent que le B.C.G. ne détermine pas, chez un animal normal de troubles durables et en particulier aucun symptôme clinique de T.B.C. Il est donc anosogène.

Les expériences de carence que nous avons effectuées, au cours desquelles les sujets ne touchaient qu'une ration contenant une quantité insuffisante de vitamine-C, ont démontré que le B.C.G.- même chez un organisme pareillement affaibli ne provoquait aucune T.B.C. clinique.

Il fût également impossible, chez ces derniers, de constater une action spécifique; mais les fonctions de défense de l'organisme sont mises, par l'association B.C.G. et manque de vitamine, à une rude épreuve; ce çi se manifeste le plus clairement par une perte de poids considérable. Toutefois elle apparaît également quand on associe: sérum de cheval et nourriture pauvre en vitamine.

Des recherches plus approfondies conçernant l'influence du facteur alimentation sur l'inoculation par le B.C.G. sont à souhaiter.

Il en est de même de quelques autres influences défavorables: températures élevées par exemple: les sujets traités au B.C.G. les supportent moins bien que les animaux normaux.

Il ne saurait donc être question pour le moment de passer à une application générale de ce traitement. Il faudra, en attendant, se limiter à un traitement strictement individuel, tout en prenant les

précautions les plus minutieuses à l'égard d'une infection tuberculeuse, immédiatement après l'inoculation, et en surveillant d'une manière spéciale l'état de nutrition générale.

Et pourtant ce ne seront que les résultats du traitement sur l'homme qui pourront nous donner un aperçu définitif sur le problème. Mais justement à cause de cela, devrons-nous opérer, en utilisant le B.C.G., avec une prudence de tous les instants. Pour le moment, seule pourra être suivie une thérapie strictement individuelle. En premier lieu afin d'éviter les redoutables infections tuberculeuses du début et les troubles de la nutrition; en second lieu pour isoler le plus soigneusement possible tous les cas exactement contrôlables, susceptibles d'être utilisés pour une statistique digne de foi.

La méthode suivie à cet effet dans les Pays-Bas, me paraît être la plus adéquate: repérer, au moyen des bureaux de consultation contre la T.B.C., les nourissons dont on connait exactement, non seulement le milieu social, mais encore les possibilités d'infection provenant de l'entourage immédiat des enfants; en d'autres termes: déterminer si les père, mère, frères et soeurs sont atteints de T.B.C., si oui, en quelle mesure, et les rapports qu'ils peuvent avoir avec l'enfant traité.

De cette manière on aura l'occasion du même coup, de trouver dans ce milieu les contrôles et de les examiner régulièrement en même temps que l'enfant. (Ceçi durant au moins trois ans.)

Ce n'est qu'ainsi qu'il sera possible, après un certain nombre d'années, d'émettre, avec quelques chances de certitude une opinion sur l'action préventive et l'absence de danger du B.C.G.

GERAADPLEEGDE LITTERATUUR.

I. A. CALMETTE et BRETON, M. Contribution à l'étude de la tuberculose expérimentale du cobay (infections et essais de vaccination par la voie digestive). T. XXI, 1907, No. 6, p. 401—416.

II. A. CALMETTE et C. GUERIN. Contribution à l'étude de la vaccination des bovidés contre la tuberculose par les voies digestives. T. XXI, 1907, p. 525—532.

III. A. CALMETTE et C. GUERIN. Nouvelle contribution à l'ètude de la vaccination des bovidès contre la tuberculose. T. XXI, 1908, No. 9, p. 689—703.

IV. A. CALMETTE et C. GUERIN. Recherches expérimentales sur la défense de l'organisme contre l'infection tuberculeuse (séro therapie, immunité). T. XXV, 1911, p. 625—641.

V. Annales de l'institut Pasteur.:
A. CALMETTE et C. GUERIN. Note à propos du mémoire de M. CHAUSSE. T. XXV, 1911, No. 9, p. 642—646.

VI. BURNET. La virulence des bacilles tuberculeux et les tuberculoses dites atténuées. T. XXVI, 1912, p. 868—892.

VII. A. CALMETTE et C. GUERIN. Nouvelles recherches expérimentales sur la vaccination des bovidés contre la tuberculose et sur le sort des bacilles tuberculeux dans l'organisme des vaccinés. T. XXVIII, 1913, No. 2, p. 162—169.

VIII. A. CALMETTE et C. GUERIN. Contribution à l'étude de l'immunité anti-tuberculeuse chez les bovidés. T. XXVIII, 1914, p. 329—337.

IX. A. CALMETTE et C. GUERIN. Nouvelles recherches expérimentales sur la vaccination des bovidés contre la tuberculose. T. XXXIV, 1920, No. 9, p. 553—560.

X. A. CALMETTE et C. GUERIN. Sur l'excrétion des bacilles tuberculeux par l'intestin et par les voies biliés (mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metschnikoff). T. XXXIII, 1919, No. 2, p. 60—67.

XI. A. CALMETTE, A. BOQUET, L. NEGRE. Contribuation à l'étude du bacille tuberculeux bilié. T. XXXV, 1921, No. 9, p. 561—570.

XII. A. CALMETTE, A. BOQUET, L. NEGRE. Essais de vaccination du lapin et du cobaye contre l'infection tuberculeuse. T. XXXVI, 1922, No. 9, p. 635—631.

XIII. A. CALMETTE et C. GUERIN. Vaccination des bovidés contre la tuberculose et méthode nouvelle de prophylaxie de la tuberculose bovine. T. XXXVIII, 1924, No. 5, p. 371—398.

XIV. A. CALMETTE, A. BOQUET, L. NEGRE. Essais de vaccination contre l'infection tuberculeuse par voie buccale chez les petits animaux de laboratoire. T. XXXVIII, 1924, No. 5, p. 399—404.

XV. J. WIBBERT. Expériences de vaccination des singes contre la tuberculose. T. XXXIX, 1925, No. 8, p. 641—651.

XVI. A. CALMETTE, C. GUERIN, L. NEGRE, A. BOQUET. Prémunition des nouveau-nés contre la tuberculose par le vaccin B.C.G. (1921—1926). T. XL, No. 2, p. 89—133.

XVII. A. CALMETTE. Sur la vaccination préventive des enfants nouveau-nés contre la tuberculose par le B.C.G. T. XLI, 1927, No. 3, p. 201—232.

XVIII. C. GUERIN, A. RICHAT, M. BOISSIERE. Essai de prophylaxie de la tuberculose bovine par le B.C.G. dans une exploitation rurale infectée (1921—1927). T. XLI, 1927, No. 3, p. 233—270.

XIX. MALVOZ et J. VAN BENEDEN. Vaccination anti-tuberculeuse par le B.C.G. en Belgique. T. XLI, 1927, No. 3, p. 271—273.

XX. J. CANTACUZENE. Essais de vaccination des nouveu-nés contre la tuberculose par le B.C.G. en Roumanie. T. XLI, 1927, No. 3, p. 274—276.

XXI. G. BLANC. Premiers documents concernant la prémunition anti-tuberculeuse des nouveau-nés par le vaccin B.C.G. à Athènes. T. XLI, 1927, No. 3, p. 277—281.

XXII. H. ROUGEBIEF. La vaccination anti-tuberculeuse par le B.C.G. en Algérie (1924—1926). T. XLI, 1927, No. 3, p. 282—283.

XXIII. COULAUD. Effets des injections intraveneuses massives de bacilles biliés. (B.C.G.), T. XLI, 1927, p. 289.

XXIV. M. BERNARD. Le vaccin B.C.G. en Indochine. T. XLI, 1927, No. 3, p. 284—285.

XXV. A. ASCOLI. Expériences de prophylaxie anti-tuberculeuse par le vaccin B.C.G. T. XLI, 1927, No. 3, p. 314—321.

XXVI. REMLINGER et BAILLY. Note sur l'innocuité du B.C.G. pour le cobaye et sur l'élimination par le tube digestif après absorption par voie buccale. T. XLI, 1927, No. 3, p. 286—313.

XXVII. M. TZEKHNOVITZER. Etude de la vaccination anti-tuberculeuse par le B.C.G. T. XLI, 1927, No. 3, p. 322—357.

XXVIII. IAKHNIS (documents de la commission Ukrainienne). La prémunition des nouveau-nés par le B.C.G. T. XLI, 1927, No. 12, p. 1045—1062.

XXIX. DRUYKOFF et MOSAUROWSKI. Sur la vaccination par le B.C.G. Lésions anatomo-pathologiques des cobayes préalablement vaccinés par le B.C.B. et inoculés avec une souche de bacilles tuberculeux virulents. T. XLI, 1927, No. 11, p. 1194—1199.

XXX. ARAO IMAMURA en MICHIHIKO TAKAHASHI. Essai d'immunition avec le B.C.G. CALMETTE—GUERIN. T. XLI, 1927, No. 12, p. 1330—1333.

XXXI. A. LAWRYNOWICZ et S. BOHDANOWICZ. L'influence de l'alimentation carencée sur le développement de la tuberculose expérimentale de la sourie blanche. Bulletin de l'institut Past. T. XXV, 1927, No. 10, p. 453 (Origineel: Rev. Tub. T. VII, Déc. 1926, p. 66.)

XXXII. A. CALMETTA (avec la collaboration de C. GUERIN, A. BOQUET, L. NEGRE. La vaccination préventive contre la tuberculose par le B.C.G. 1927, MASSON & CIE, ED. Boulev. St. Germain, Paris.

XXXIII. A. CALMETTE. l'Infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux. 2e. ed. MASSON & CIE, 1922.

XXXIV. A. CALMETTE et C. GUERIN. Sur quelques propriétés du bacille tuberculeux cultivé sur la bile. Académie des Sciences 28 Dec. 1908, p. 1456—1459.

XXXV. A. CALMETTE, C. GUERIN et WEIL—HALLE (avec la collaboration de A. BOQUET, L. NEGRE, WILBERT, LEGER et TURPIN). Essais de l'immunisation contre l'infection tuberculose. Press Médic., 2 Juill 1928, p. 553—554.

XXXVI. A. CALMETTE, C. GUERIN, L. NEGRE, A. BOQUET (avec la collaboration de MM. B. WEIL—HALLE, WILBERT et TURPIN). Résultats des essais de prémunition des nouveaunés contre la tuberculose par le vaccin B.C.G., 1921 à 1926. Presse Médic. 24 Fevr. 1926, p. 241.

XXXVII. A. CALMETTE, C. GUERIN, B. WEIL—HALLE. Essais d'immunition contre l'infection tuberculeuse. Bulletin de l'academie de Médecine, 24 Juin 1924, p. 787—796.

XXXVIII. A. CALMETTE, C. GUERIN, B. WEIL—HALLE, L. NEGRE, A. BOQUET, WILBERT, TURPIN. Essais de prémunition par le B.C.G. contre l'infection tuberculeuse. Bulletin de l'Academie de Médicine, 16 Juin, 1925.

XXXIX. B. WEIL—HALLE et R. TURPIN. La vaccination anti-tuberculeuse du nourrisson. Bull. de l'Acad. de Méd., 25 Janv. 1927.

XL. H. SELTER. Weitere Untersuchungen über künstliche Tuberkulose Immunisierung. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krankh., 1922, 98e Bd., S. 192—214.

XLI. H. SELTER. Ueber Tuberkulose-Schutzimpfung. Klin. Wochenschr. 1. Jhrg. No. 32, S. 1589—1592.

XLII. H. SELTER. Weitere Untersuchungen über künstliche Tuberkulose-Immunisierung. Klin. Wochenschr. 14 Mai 1923, No. 20, S. 943.

XLIII. H. SELTER. Ist eine Schutzimpfung des Menschen gegen Tuberkulose mit abgetöteten oder avirulenten Tuberkelbazillen möglich? Deutsch Med. Wochenschr. 26. Dez. 1924, No. 52.

XLIV. H. SELTER. Ein Versuch zur Tuberkulose Schutzimpfung des Menschen. Deutsch. Mediz. Wochenschr. 17. Juli 1925. S. 1181—1184.

XLV. H. SELTER und W. BLUMENBERG. Ueber die Wirkung der Calmetteschen Tuberkulose Schutzimpfstoffe in Meerschweinchen Versuchen. Klin. Wochenschr. 11. Juni 1927, S. 1134—1137.

XLVI. H. SELTER. Die Immunitätsverhältnisse bei Meerschweinchen Tuberkulose. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Krankh., 95. Bd. 1922, S. 159—207.

XLVII. H. SELTER. Ueber die Wirkung abgetöteter Tuberkelbazillen. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krankh. 95. Bd. 1922, S. 233—244.

XLVIII. R. BIELING. Tuberkulose und Ernährung. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Krankh. Bd. 101, H. 4, S. 442, 1924.

XLIX. R. BIELING. Unternährung und Infektion. Deutsch Mediz. Wochenschr. 1927, No. 5, S. 182—183, ibid. No. 6, S. 228—230.

L. v. BISCEGLIE und A. ICHAZ—SCHAEFFER. Tuberkulose Schutzimpfung. Der heutige Stand des Problems. Kritik und Ausblicke. Zeitschr. f. Immunit. forsch., 6. Dez. 1926.

LI. v. BISCEGLIE. Versuche über Tuberkulose-Schutzimpfungen mit lebendigen durch Radiumbehandlung abgeschwächten Koch-Bazillen. Zeitschr. Immunit. forsch., 6. Dez. 1926.

LII. B. LEICHTENTRITT. Tuberkulose und Ernährung. Deutsch Med. Wochenschr. No. 21, 23 Mai 1927, S. 672—673.

LIII. NATHAN RAW. A Tuberculosis immunizing vaccine. The Britt. Medic. Journal, 23 April, 1921, p. 594—596.

LIV. The vaccination of cattle against tuberculosis. The Brit. Med. Journ. Saturd. Jan. 22, 1921.

LV. H. S. FRENKEL. Pathologisch-anatomische veranderingen na inenting met de tuberculose entstof van CALMETTE en GUERIN (B.C.G.) bij kalveren en caviae. Verslagen en mededeelingen betreffende de volksgezondheid. Aug. 1927, No. 8, p. 1229—1236.

LVI. W. SCHUURMANS STEKHOVEN. Kritische beschouwingen en enkele proeven over de entstof van CALMETTE en GUERIN ter voorbehoedende onvatbaarmaking tegen de tuberculose. J. B. WOLTERS, ed. 1926.

LVII. CALMETTE. Zur Frage der Impfung der Neugeborenen gegen Tuberkulose mit B.C.G. Wiener Klin. Wochenschr. 1928, No. 1, p. 14—15.

LVIII. E. NOBEL. Ueber die Tuberkulose Schutzimpfung nach CALMETTE. Wiener. Klin. Wochenschr. 1928. No. 3, p. 87—88.

LIX. LOEWENSTEIN. Ueber angeborene und erworbene Immunität gegen Tuberkulose bei Tier und Mensch. Wiener Klin. Wochenschr. 1928. No. 19, p. 653—655.

LX. KRANS. Zur Frage der Apathogenität des B.C.G. Stammes. Zur Schutzimpfung nach CALMETTE. Wiener Klin. Wochenschr., p. 441—444.

LXI. CALMETTE. Schutzimpfung mit B.C.G. gegen Tuberkulose. Wiener Klin. Wochenschr. 1928. No. 21, p. 725—728.

LXII. WEIL—HALLE. Die Impfung gegen Tuberkulose bei subkutaner Einspritzung des B.C.G. ibid. p. 728—731.

LXIII. GUERIN. Prophylaxe gegen Tuberkulose. Infektionen bei Rindern mittels B.C.G. ibid. p. 731—735.

LXIV. H. CHIARI. Pathologisch-anatomische Veränderungen bei mit B.C.G. geimpften Tieren. Wiener Klin. Wochenschr. 1928. No. 23, p. 798.

LXV. C. PIRQUET. Allergie nach Lebensalter und Geschlecht bei der Tuberkulose, ibid. p. 797.

LXVI. E. NOBEL. Tuberkulose Immunität und Schutzimpfung nach CALMETTE mit B.C.G. ibid. p. 798—800.

LXVII. S. ROSENFELD. Der statistische Beweis für die Immunisierung Neugeborener mit B.C.G. ibid. p. 800—804.

LXVIII. R. KRAUS. Zur Schutzimpfung nach CALMETTE mit B.C.G. Wiener Klin. Wochenschr. 1928. No. 30, p. 1082—1083.

LXIX. L. HOFBAUER. Zur Debatte über das Calmettesche Verfahren der Tuberkulose Verhütung. Wiener Klin. Wochenschr. 1928. No. 41, p. 1438—1439.

LXX. R. HEYNSIUS V. D. BERG. Tuberculose-studie-commissie van de Ned. Centr. Vereen. tot bestrijding der Tuberculose. Zitting 29 October 1927.

LXXI. H. ALDERSHOFF. ibid. Zitting van 20 October 1928.

INHOUD.

		Bldz.
Inleiding.		9
Hoofdstuk I:	Kort overzicht van de werking van den B.C.G. bij de achtereenvolgende overentingen. Eenige beschouwingen over de waarde der statistische gegevens omtrent met B.C.G. behandelde zuigelingen.	13
Hoofdstuk II:	Subcutane en intraperitoneale entingen en herentingen met B.C.G. bij caviae.	23
Hoofdstuk III:	Beteekenis van den voedingstoestand voor de behandeling met B.C.G. Carentieproeven.	45
Hoofdstuk IV:	Invloed van de warmte op proefdieren behandeld met B.C.G. Invloed van vochtigheid op proefdieren behandeld met B.C.G.	76
Slotbeschouwingen en conclusies.		83
Litteratuuropgave.		90